

INSTITUT DE PATHOLOGIE VÉTÉRINAIRE
DE L'UNIVERSITÉ DE ZURICH

Directeur: Professeur Dr Walter Frei

Quelques expériences in vitro
à propos
de la stéatose hépatique

(Autolyse, Phanérose des graisses, Influence de la lécithine)

THÈSE

présentée à la Faculté de Médecine Vétérinaire de Zurich
pour le grade de Docteur en médecine vétérinaire

par

ERNEST TEUSCHER
de Därstetten et Erlenbach (Berne)

Acceptée sur la recommandation du Professeur Dr W. Frei

Zurich 1952

IMPRIMERIE LAUSANNOISE LOUIS GENEUX, LAUSANNE

Quelques expériences in vitro
à propos
de la stéatose hépatique



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INSTITUT DE PATHOLOGIE VÉTÉRINAIRE
DE L'UNIVERSITÉ DE ZURICH

Directeur: Professeur Dr Walter Frei

Quelques expériences in vitro
à propos
de la stéatose hépatique

(Autolyse, Phanérose des graisses, Influence de la lécithine)

THÈSE

présentée à la Faculté de Médecine Vétérinaire de Zurich
pour le grade de Docteur en médecine vétérinaire

par

ERNEST TEUSCHER
de Därstetten et Erlenbach (Berne)

Acceptée sur la recommandation du Professeur Dr W. Frei

Zurich 1952

IMPRIMERIE LAUSANNOISE LOUIS GENEUX, LAUSANNE



*A ma femme,
et à mes parents,
en témoignage de ma reconnaissance.*

TABLE DES MATIÈRES

I. Introduction

1. La stéatose du foie	9
2. L'aspect morphologique des stéatoses	10
3. Apport exagéré de matières grasses	10
4. Perturbation du jeu des diastases	13
5. Défaut de substances essentielles, dites lipotropes	14
6. Substances perturbatrices	15
7. Le choc	15
8. « Dégénérescence » graisseuse due à des causes physico-chimiques. Phanérose	16

II. Digestion et autolyse

1. Complexes lipo-protéiques	18
2. Digestion	18
3. Application à la pathologie	19
4. Autolyse	20
5. Expériences de digestion	21
6. Résultat des expériences de digestion	22
7. Récapitulation des résultats	24
8. Expériences d'autolyse.	24
9. Résultat des expériences d'autolyse	25
10. Récapitulation des résultats des expériences d'autolyse	27
11. Conclusion	27

III. Influence des protéines sur l'émulsion des graisses

1. Les théories de Fischer et Hooker	28
2. Discussion	29
3. L'inversion des émulsions	29

4. Les émulsions dans l'organisme	30
5. Expériences personnelles	30
6. Conclusion	38

IV. Influence de la lécithine sur les émulsions d'huile d'olive

1. Importance des phosphatides	39
2. Expériences personnelles	40
3. Aspect des coupes	41
4. Résultats	41
5. Mélange lécithine-blanc d'œuf	51
6. Valeur des résultats	52
7. Conclusion sur les expériences avec lécithine	53

V. Résumé	54
---------------------	----

VI. Conclusion	55
--------------------------	----

I. INTRODUCTION

1. La stéatose du foie.

On a coutume de distinguer une surcharge graisseuse et une dégénérescence graisseuse du foie. Théoriquement, il est facile de séparer ces deux notions. On peut admettre, comme le faisait *Joest* (39) qu'une *surcharge* ou *infiltration* est provoquée par un apport exagéré de matières grasses dans des cellules morphologiquement intactes, et dont le noyau, en particulier est indemne. On peut appeler *dégénérescence* l'état de toute cellule contenant de la graisse et qui est endommagée. Mais la cellule contient-elle de la graisse parce qu'elle est endommagée ? Ou est-elle endommagée parce qu'elle contient de la graisse ? Ou contient-elle de la graisse par hasard, alors qu'elle est endommagée pour une cause toute différente ? Une dégénérescence n'est plus selon la conception de *Virchow* (79) une transformation des substances albuminoïdes de la cellule en matières grasses. On pourrait admettre que l'apparition de corps gras dans une cellule sans apport extérieur, serait due à une modification physico-chimique du milieu cellulaire. Des gouttes de graisse, auparavant invisibles parce que très fines, deviendraient plus grandes par fusion, et en même temps visibles. Un tel phénomène serait une *phanérose*. Mais le problème est beaucoup plus complexe. La présence de corps gras dans une cellule hépatique peut être un phénomène normal. *Mac Mahon* (44) montre que la présence de gouttes de graisse très grosses ou plus petites dans une cellule hépatique n'empêche aucunement la cellule de se diviser. Il est même possible que les corps gras soient une bonne source d'énergie pour la synthèse des protéines. *Mac Mahon* signale également, d'après *Doljanski*, la présence de gouttes de graisse plus ou moins fines dans des cultures de cellules hépatiques en pleine croissance. Une surcharge graisseuse simple peut donc être physiologique et passagère, ou pathologique et durable. Une surcharge importante pourrait troubler le fonctionnement d'une cellule par simple pression mécanique. Enfin une modification invisible et purement fonctionnelle de la cellule peut entraîner une surcharge, même si l'apport de corps gras est normal. Il est donc extrêmement difficile au moyen du seul microscope, de caractériser une stéatose du foie et de décider si elle est pathologique ou normale. Pour avoir une vue d'ensemble du point de vue morphologique de la question, nous allons essayer de passer en revue l'opinion de quelques auteurs.

2. L'aspect morphologique des stéatoses.

Déjà *Joest* (39) remarque une certaine correspondance entre l'aspect morphologique et le caractère d'une stéatose. Il essaie de différencier une infiltration de la périphérie du lobe hépatique d'une infiltration centrale, diffuse ou disséminée. Il signale la possibilité d'une congestion de sang veineux dans la genèse d'une stéatose centrolobulaire. Il dit que « en général », une dégénérescence graisseuse est centrolobulaire, et que les gouttes de graisse sont petites. Une infiltration simple serait périphérique et formée de gouttes plutôt grosses. Mais il admet que ces signes ne sont pas constants. Il attache plus d'importance aux altérations morphologiques du noyau, telles que la pycnose, et qui indiqueraient une dégénérescence.

Hueck (37) dit que la grosseur des gouttes de graisse ne peut donner aucune indication.

Sachs (65) reprend les distinctions connues de stéatose périphérique, diffuse, centrale ou disséminée. Mais il y ajoute la notion de « péribiliaire » ou « périvasculaires » selon le pôle de la cellule hépatique qui contient le plus de graisse. Il affirme qu'une infiltration normale est formée de grosses gouttes, disposées irrégulièrement. Une stéatose toxique serait périphérique et périvasculaire, une stéatose hypoxémique centrale et périvasculaire.

Mais les travaux de *Eger* (24, 25) ne confirment pas les résultats de *Sachs*. *Eger* considère à son tour la zone centrale comme la plus active, et une stéatose centrale comme physiologique, ce qui est en contradiction avec l'opinion de *Joest*. Selon *Sysak* (cité par *Eger*), des variations importantes dépendraient de la nourriture, de l'état d'embonpoint, de la saison et des conditions de vie.

L'intérêt de ces observations est grand et elles méritent d'être poursuivies. Toutefois il ne faut pas perdre de vue que les causes possibles d'une stéatose sont nombreuses, que plusieurs facteurs peuvent intervenir en même temps et donner une image complexe, d'autant plus qu'une coupe histologique d'un foie n'est jamais schématique et que certaines situations intermédiaires sont parfois difficiles à interpréter. Ceci nous invite à passer en revue les causes possibles d'une stéatose hépatique.

3. Apport exagéré de matières grasses.

Le foie peut recevoir une quantité exagérée de matières grasses pour plusieurs raisons : 1. L'alimentation est parfois trop riche en graisses. Les corps gras sont transportés de l'intestin au foie par le canal thoracique et l'artère hépatique. 2. Il peut se produire une augmentation de la synthèse des corps gras à partir des hydrates de carbone. 3. La graisse emmagasinée

dans les dépôts peut être mobilisée d'une façon anormale et transportée en grande quantité jusqu'au foie.

1. Un exemple d'*alimentation trop riche* est fourni par le gavage des oies. Les graisses emmagasinées dans le foie sont en partie fournies directement par la nourriture.

2. Mais on gave surtout avec des hydrates de carbone, qui livrent les éléments pour une *synthèse accrue de corps gras*. *Dickerson, Tepperman et Long* (22) montrent le rôle du foie dans la synthèse des graisses à partir des hydrates de carbone, synthèse qui d'après *Stetten et Boxer* est constante dans l'organisme (72). Une étude faite par *Redon* (59) sur les oies de Toulouse, et rapportée par *Darraspen et Florio* (21) signale que la nourriture employée pour la gavage, par exemple le maïs, ne contient que 4 % de lipides et jusqu'à 71 % de glucides. Un foie gras ne se rencontre jamais chez des oies maigres. Le foie fonctionne ici comme un dépôt de corps gras. Mais si l'abondance de nourriture joue un rôle prépondérant dans le gavage des oies, elle n'est pas le seul facteur qui y contribue. En effet, on empêche toute *activité* musculaire chez ces animaux, en les maintenant étroitement enfermés. Les substances fournies par la nourriture, ne peuvent être utilisées par les muscles, d'où la transformation des glucides en graisse. Mais l'engraissement du porc peut amener la formation d'un lard épais sans stéatose comparable à celle des oies. Il y a donc une disposition spécifique chez certains oiseaux. On connaît la fragilité du foie de certaines poules provoquant des hémorragies mortelles à la suite du plus petit choc. Cette fragilité peut être due à de la leucose, de la tuberculose, mais aussi à une stéatose au plus haut degré. Un autre exemple, qui peut avoir une certaine importance pratique est signalé par *Hupka* (38). Des vaches ayant reçu pendant la gestation une nourriture très concentrée contractent à l'époque du vêlage ou 2 à 4 semaines plus tard une maladie cliniquement analogue à la fièvre vitulaire. L'autopsie montre une forte infiltration grasseuse du foie avec de multiples foyers de nécrose. Cette stéatose est-elle due à une nourriture trop riche ? ou mal équilibrée ? ou s'agit-il d'une entéro-toxémie ?

Enfin *Redon* (59) rapporte que certains spécialistes favorisent la surcharge grasseuse des foies d'oie en ajoutant au gavage classique l'administration de poisons, probablement à base d'arsenic, ou d'extraits du lobe antérieur de l'hypophyse.

3. Nous rejoignons ainsi une forme de surcharge grasseuse produite non plus par un excès de nourriture, mais par un *transport de corps gras* à l'intérieur de l'organisme. Les graisses des dépôts sont mobilisées et conduites en masse jusqu'au foie. Les dépôts sont formés par l'ensemble des cellules grasseuses. Ils restent constants chez un animal en équilibre calorique, mais sont soumis à une transformation quantitative et qualitative continue, quoique relativement lente [*Peters et Van Slyke* (55)]. Cette

transformation des dépôts est bien connue des éleveurs de porcs, puisqu'elle leur permet de régler dans une certaine mesure la qualité du lard par une nourriture appropriée.

La mobilisation des graisses des dépôts est accélérée :

- a) par le jeûne ;
- b) par des substances toxiques ;
- c) par des hormones.

a) *Le jeûne prolongé* oblige l'organisme à utiliser les réserves emmagasinées dans les dépôts graisseux. Or ces dépôts contiennent des graisses neutres. Les cellules ne peuvent utiliser que des graisses phosphorées ou des molécules plus petites (glucose). La transformation des graisses neutres en phosphatides ou en glucose a lieu dans le foie. Le foie reçoit un excès de corps gras qu'il ne peut utiliser au fur et à mesure. Il s'agirait d'une excitation trop forte des dépôts. Il est aussi possible que le jeûne provoque un ralentissement de la transformation des graisses neutres en phosphatides en perturbant le jeu des enzymes. Il faut envisager ici l'éventualité d'un défaut de matières albuminoïdes, qui ne sont plus fournies par la nourriture.

b) Depuis les expériences de *Rosenfeld* (63) on sait que certains poisons tels que le phosphore, l'arsenic et l'antimoine, favorisent la mobilisation des corps gras dans les dépôts, et leur transport jusqu'au foie. Mais le mécanisme de cette action est mal connu. Ces poisons agissent-ils directement sur les dépôts, comme on l'a supposé pour la phlorizine ? Ou bien agissent-ils directement sur le foie en empêchant la transformation des graisses neutres en phosphatides, et en créant ainsi un besoin de matières grasses ? Ou le foie attaqué par ces substances produirait-il une sorte d'hormone qui agirait sur les dépôts ?

Ce ne sont là que des hypothèses.

c) *L'action des glandes endocrines* est connue, en ce qui concerne l'hypophyse, par les expériences de *Best*, *Campbell* et *Lucas* (12, 13, 15). Quand on administre à des rats à l'état de jeûne certains extraits du lobe antérieur de l'hypophyse, on constate une rapide augmentation des lipides du foie et des reins et une diminution des graisses des autres tissus. Ces graisses sont surtout des glycérides (15). Mais l'hypophyse et la *thyroïde* activent le métabolisme en général. Leur action exagérée tend à détruire les réserves. C'est ce qui entraîne vraisemblablement la mobilisation des dépôts. Le *pancréas* a une action plus complexe sur laquelle nous reviendrons.

Dans les maladies, des causes analogues peuvent provoquer une surcharge graisseuse. L'inappétence peut être assimilée au jeûne. La fièvre augmente le métabolisme et provoque une hypertonie du grand sympathique correspondant à une hyper-activité thyroïdienne. Il en résulte une accélé-

ration de la décomposition des graisses. Enfin certaines toxines peuvent provoquer la mobilisation des dépôts, ce qui explique en partie les stéatoses d'origine toxi-infectieuses.

Que le foie reçoive peu ou beaucoup de matières grasses, cela n'a guère d'importance, tant qu'il est capable de les utiliser. Les troubles les plus graves sont ceux de l'oxydation et de la synthèse. Donc d'abord, les causes qui paralysent les diastases.

4. Perturbation du jeu des diastases.

Une surcharge grasseuse du foie peut être due à une perturbation de l'activité des enzymes. Les diastases interviennent dans la décomposition ou l'oxydation des graisses neutres, et dans la phosphorylation nécessaire à la synthèse des graisses phosphorées. Les phosphatides jouent un rôle certain dans le transport des corps gras, soit que les graisses doivent être transformées en phosphatides pour être transportées, soit que les phosphatides entraînent avec elles une certaine quantité de graisses neutres en favorisant leur émulsion (voir plus bas). Il suffit que certaines toxines agissent sur l'une ou sur l'autre de ces diastases pour rompre une chaîne de réactions indispensables et immobiliser les corps gras dans le foie. Des poisons capables d'agir sous cette forme sont par exemple le tétrachlorure de carbone, le chloroforme, le mapharsène, l'y-hexachlorocyclohexane, l'extrait aqueux d'ammanite phalloïde, les sels d'antimoine et d'arsenic. On signale aussi la lupine, les toxines diphtériques et la tuberculose (*Lecocq*, cité par *Darraspen* et *Florio*). L'importance pratique de ces substances dans la maladie (toxines), la narcose (chloroforme), les vermifuges (tétrachlorure de carbone), les insecticides (hexachloro-cyclohexane) et les empoisonnements (arsenic, hexachlorocyclohexane, phosphore) est très grande. Certaines observations faites sur des chevaux emphysémateux (*Darraspen* et *Florio*), montrent qu'une dose d'arsenic unique, mais trop grande, provoque une stéatose. Des petites doses répétées produisent une cirrhose. *Witschard* (81) a étudié l'influence des toxines bactérielles sur l'oxydation du foie. Une accélération a été obtenue avec des streptocoques hémolytiques, les colibacilles, *Salm. enteritidis Gärtner*, *Salm. enteritidis Breslau* et *Clostridium septicum*. *Streptococcus agalactiæ*, *Staphylococcus citreus* et *Pasteurella aviseptica* provoquèrent un ralentissement de l'oxydation par les mitochondries et les extraits de foie. La tuberculine, les toxines tétaniques et diphtériques eurent peu d'influence sur les processus d'oxydation. *Schulte* (67) rapporte l'importance des vitamines B qui diminuent la toxicité du phosphore chez le lapin, sans doute parce que la vitamine B est incorporée aux enzymes.

5. Défaut de substances essentielles, dites lipotropes.

Une découverte importante a été faite par *Best* et ses collaborateurs (7, 8, 10, 11) : la choline empêche certaines stéatoses d'origine alimentaire. Ce fut la naissance de la notion de *facteurs lipotropes*, appelés aussi « *agents antistéatogènes* ». Par la suite, on put généraliser cette action en la rapportant à la synthèse des phosphatides, parmi lesquelles les lécithines sont les plus importantes et ne peuvent être entièrement synthétisées. Le foie accomplit cette synthèse en partant des acides gras, du glycérol, de l'acide phosphorique et de la choline, qui composent la lécithine. L'absence de choline empêche cette synthèse. La lécithine contenue dans la nourriture, peut fournir la choline (9). L'organisme peut aussi synthétiser la choline à condition d'avoir à sa disposition des groupements « méthyl » fournis par exemple par la méthionine. [*Tucker* et *Eckstein* (76), *Best* et *Huntsman* (11)]. D'autres bases peuvent fournir ce groupement « méthyl ». Ce sont la bétaine (56), la méthylcystéine, le diméthylsulfure, les méthylpurines (caféines) et la théobromine par exemple.

La choline et la méthionine se trouvent dans certaines protéines. On voit donc la valeur des protéines comme facteur lipotrope, à condition d'en d'en considérer non seulement la quantité, mais aussi la qualité. Ceci peut être important pour l'alimentation des animaux. *Darraspen* et *Florio* (21) signalent les cas de *maladie de Düren* rapportés par *Matet* (46). Cette maladie frappait des vaches nourries à la farine de soja. Le soja cru, qui contient 2 % de méthionine, se comporte comme un aliment qui en serait dépourvu. Le soja autoclavé, par la libération de certaines protéines, semble-t-il, n'aurait plus cet inconvénient. La croissance et la lactation exagèrent les besoins en protides, et peuvent favoriser de telles carences. Mais l'excès de protides peut être également néfaste. *Darraspen* et *Florio* rapportent une épizootie dans les élevages du Vison, en Amérique, avec paraplégie, « diarrhée noire » et mort. L'autopsie révéla une dégénérescence graisseuse du foie. Les animaux avaient reçu 30 % de viande de cheval et 5-6 % de céréales et de produits complémentaires (16). Il s'agirait d'un déséquilibre alimentaire hyperprotidique. Le régime normal varie avec chaque espèce. On ne peut transposer une expérience faite chez le rat ou le cobaye, sans autre au chien, à l'homme ou au cheval. Un excès de protides peut être normal chez le chien, nuisible chez la vache.

La vitamine B₆ (pyridoxine), la nicotinamide et l'acide pantothénique agiraient comme coenzymes de la déhydrogénase des acides gras supérieurs. Ils comptent donc avec la vitamine B₁₂ [*Aschkenasy* (4)] parmi les facteurs lipotropes. Certains acides gras essentiels qui ne peuvent pas être synthétisés, tout au moins par le rat, entrent dans la composition des lécithines. Leur absence provoquée peut également amener une stéatose. Il s'agit par exemple des acides linoléique et arachidonique. Dans le même

ordre d'idée, signalons la stéatose qui suit l'ablation du pancréas chez le chien, constatée par *Allan* en 1924. *Chaikoff* et *Entenman* (17) font une bonne mise au point de la question. *Ellen Mäder* (45) décrit un cas clinique de stéatose du foie consécutive à une lésion du pancréas chez l'homme, avec augmentation des cellules A. L'existence d'une hormone, le **lipocaïc**, supposée par *Dragstedt*, *Prohaska* et *Harms* (58), n'est pas acceptée sans réserve. En effet *Ralli*, *Rubin* et *Present* (58), *Chaikoff* et *Entenman* (17) provoquent la même stéatose en ligaturant le canal pancréatique. Cette stéatose peut être évitée en incorporant du suc pancréatique à la nourriture d'un chien dépancréatisé. Si elle existe, cette substance serait donc contenue dans les sécrétions externes du pancréas. Et il faut tenir compte de l'action du suc pancréatique dans la digestion des protéines, et par suite dans leur résorption.

Il est clair que les facteurs lipotropes peuvent améliorer ou guérir les stéatoses créées par leur absence. Mais ils peuvent intervenir aussi dans des cas d'origine différente. Par exemple *Best*, *Mac Léan* et *Ridout* (10) ne peuvent empêcher par la choline la stéatose produite par le phosphore. Mais après élimination du phosphore, la choline favorise la guérison. La choline diminue l'intensité des troubles provoqués par le tétrachlorure de carbone chez le rat. On pourrait envisager leur emploi pour combattre les dommages de ce vermifuge chez le mouton ou le cheval.

6. Substances perturbatrices.

S'il existe des substances qui sont indispensables, soit parce qu'elles font partie des phosphatides (choline), soit parce qu'elles favorisent la transformation des lipides ou « turnover », comme la méthionine, il en est d'autres qui troublent ces phénomènes. La cystine favorise la surcharge grasseuse du foie en augmentant le métabolisme [*Griffith* (32)] ou parce qu'elle supplante la choline. La biotine ou vitamine H provoque une stéatose combattue efficacement par l'inositol [*Gavin*, *Mac Henry* (29, 31)]. La thiamine cause une infiltration grasseuse combattue par la choline (33), mais pas par la vitamine B₆ (30). L'administration d'une grande quantité de cholestérine produit également une stéatose, mais un tel cas doit être rare en pathologie naturelle, bien que la quantité de cholestérine augmente dans le sang au début des maladies infectieuses.

7. Le choc.

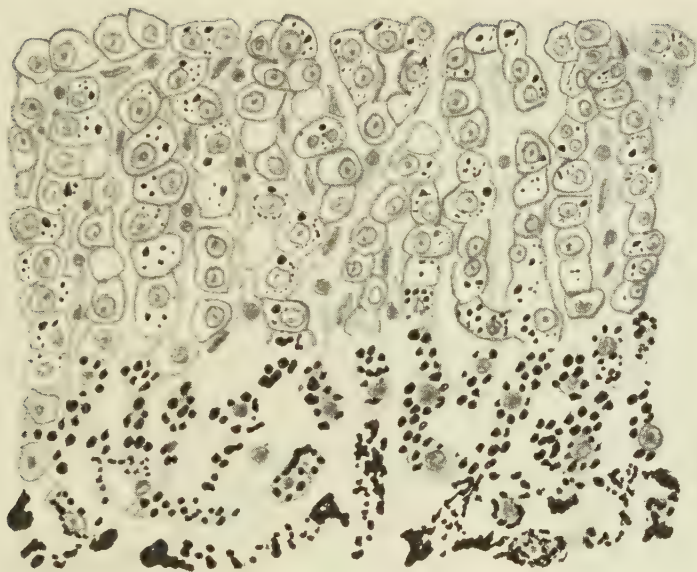
Dans son livre sur le « stress », *Selye* (68) traite en plusieurs endroits l'action du choc sur le métabolisme des lipides. Le choc tend à vider les dépôts gras et à transporter les corps gras jusqu'au foie, où ils provoquent une surcharge. Suivant la cause de l'état de choc (froid, maladie,

opération, troubles psychiques, rayons X, allergie, efforts physiques, etc.) une surcharge graisseuse peut être la résultante de plusieurs facteurs. La cause première intervient en provoquant une réaction de l'organisme, et elle agit donc indirectement, notamment par l'intermédiaire de l'hypophyse et des capsules surrénales. La cortisone elle-même peut d'ailleurs provoquer une stéatose. La surcharge graisseuse du foie n'est pas constante dans le choc. *Selye* signale des différences de comportement selon les espèces. Il nous semble intéressant de souligner une fois encore la dépendance mutuelle des divers organes de l'animal. On peut de moins en moins, en pathologie, considérer un organe isolé.

8. « Dégénérescence » graisseuse due à des causes physico-chimiques. Phanérose.

La dégénération graisseuse, telle qu'elle était conçue par *Virchow* (79), était considérée comme la transformation irréversible de la substance cellulaire en matières grasses. La synthèse des graisses à partir des protéines est possible par l'intermédiaire des hydrates de carbone. Mais ce processus n'est pas considéré, aujourd'hui, comme étant à la base de la dégénérescence graisseuse [*Terbrüggen* (74)]. *Fischer* et *Hooker* (26) à la suite d'une série d'expériences sur les émulsions, considèrent l'apparition de corps gras dans la cellule comme une transformation physico-chimique. Les corps gras seraient présents dans le protoplasme sous forme de gouttelettes de diamètre inférieur à $0,1\ \mu$ et par conséquent invisibles. Un changement de la structure cellulaire forcerait ces gouttelettes à se grouper pour former des gouttes plus grandes qui elles, seraient visibles. *Fischer* et *Hooker* arrivent à cette conclusion en partant d'un fait également signalé par *Hueck* (37) : l'analyse chimique et l'examen microscopique d'un tissu n'indiquent pas toujours la même quantité de corps gras. Un foie peut contenir relativement beaucoup de matières grasses et une coloration au Soudan III en décèle peu ou pas. Inversement, il arrive que l'analyse chimique ne décèle que peu de lipides, et que l'examen microscopique révèle une stéatose marquée.

Frei, *Stünzi*, *Almasy* et *Holzach* (28), en comparant également l'aspect histologique de coupes de foie aux résultats de l'analyse chimique, trouvent des cas qui concordent, mais aussi des cas qui ne concordent pas. Ils remarquent en même temps une correspondance entre la quantité relative des phosphatides et l'aspect morphologique. Plus les phosphatides ont un pourcentage élevé, moins les graisses sont visibles. Moins il y a de phosphatides, plus la stéatose paraît importante au microscope. Partant de ce résultat, les auteurs pensent que le problème de la stéatose peut être en rapport avec la dispersion des graisses, et en particulier que les phosphatides pourraient favoriser cette dispersion, à cause de leur hydrophilie partielle.



Digestion en bordure
En noir : les gouttes de graisse
Après 3 heures

Fig. 1

Ce qui importerait donc, c'est l'état de dispersion des matières grasses. Les causes de la phanérose des graisses, ou apparition subite des graisses jusqu'alors invisibles, seraient donc celles qui diminuent l'état de dispersion des lipides. Dans nos expériences et considérations, nous nous occuperons de quelques conditions capables d'influencer le degré de dispersion des graisses dans un milieu protéique colloïdal analogue à celui du cytoplasme. Une partie de nos expériences concerne la destruction de la liaison lipides-protéines par digestion ou autolyse des cellules hépatiques. Une autre partie traitera de l'émulsion de graisses dans un milieu aqueux, avec adjonction de lécithine et de protéine.

La structure cellulaire. J'emprunte à Turchini (78) une description sommaire de la structure cellulaire :

« Le protoplasme est un hydrogel fluide où les micelles édifiées par de très grosses molécules peuvent posséder des charges électriques. Les propriétés du protoplasma sont liées à son état colloïdal. Les surfaces de contact sont extraordinairement développées et les actions de surface créent les phénomènes d'adsorption. Les mitochondries avec leur axe protidique et leur écorce lipoïdique sont le siège d'oxydo-réductions et des catalyseurs de surface. Les enclaves graisseuses sont d'origine mitochondriale. Elles sont élaborées à l'intérieur des mitochondries ou se déposent autour d'elles. »

Si bien qu'un corps gras peut être invisible :

a) s'il est étroitement lié aux protéines, par exemple par une adsorption moléculaire ;

b) s'il est dispersé dans le milieu colloïdal cellulaire en gouttelettes très fines sous la forme d'une émulsion.

Les causes de la phanérose des graisses sont : a) celles qui séparent les corps gras de leur support protidique ; b) celles qui rompent l'équilibre d'une émulsion très fine en milieu colloïdal.

Digestion et autolyse. On peut séparer les corps gras des protéides en détruisant les protéides au moyen de diastases telles que la pepsine ou la trypsine. On peut aussi abandonner un organe à lui-même à une température convenable (37°), et laisser agir les ferments naturellement présents, dans l'autolyse. Nous consacrerons à ces phénomènes la première partie de notre étude.

Influence des protéines sur la dispersion des graisses. La nature des protéines, leur teneur en eau, leur degré d'acidité ou la coagulation peuvent également influencer l'état de dispersion des corps gras. Nous examinerons la question dans la deuxième partie de ce travail.

Influence de la lécithine sur la dispersion des graisses. Nous connaissons l'importance des phosphatides pour le transport des corps gras. Dans la troisième partie de cette thèse, nous essaierons de vérifier l'hypothèse de Frei, Stünzi, Almasy et Holzach : les phosphatides, et en particulier la lécithine, favorisent-elles la dispersion des graisses neutres ?

II. DIGESTION ET AUTOLYSE

Si nous consacrons un chapitre à l'étude de la digestion élective et de l'autolyse de certains tissus, et du foie en particulier, c'est que ces phénomènes semblent jouer un rôle dans certains processus pathologiques. Mais un processus pathologique se déroule dans un organisme vivant. Il est complexe. Parce que le milieu organique se trouve modifié passivement par l'agent pathogène ou activement par certaines réactions. Les destructions cellulaires sont souvent accompagnées d'hyperémie, d'œdème, d'infiltration leucocytaire ou de proliférations du tissu conjonctif. En examinant séparément la digestion partielle ou l'autolyse d'un tissu isolé, nous pouvons ainsi mieux voir ce qui est dû à la destruction cellulaire seule, sans l'influence d'un tissu vivant. Une digestion peut être élective. Nous pouvons choisir et limiter les enzymes. L'autolyse au contraire échappe à notre contrôle. Elle dépend des enzymes déjà présents dans la cellules et des corps chimiques tels que les acides susceptibles de se former au cours de l'autolyse elle-même. Nous limiterons notre étude à l'apparition d'une phanérose des graisses au cours de la digestion et de l'autolyse du foie.

1. Complexes lipo-protéiques.

Nous avons signalé dans l'introduction, qu'une partie des corps gras étaient étroitement liés aux protéines. C'est ainsi que *Bennhold* (6) explique le transport des lipides par les globulines du sang. Sous cette forme, les lipides ne sont pas visibles. Mais il suffit d'après *Schmidt* (66) que ces globulines soient coagulées par la formaline pour qu'apparaissent les lipides, et qu'on puisse les colorer. On sait également qu'une partie des lipides du foie reste constante (élément constant). Ces lipides font partie de la structure cellulaire. Ils son intimement liés aux protéides et normalement invisibles.

2. Digestion.

Une coupe histologique du foie, colorée par le Soudan III, ne montre pas de corps gras, ou en montre peu. Après digestion élective avec de la trypsine ou de la pepsine, verrons-nous apparaître des corps gras nouveaux,

colorés par le Soudan III ? Théoriquement, cela ne fait aucun doute. Si un foie ne contient histologiquement aucune graisse, l'analyse chimique en découvre toujours (au moins 2 %). Donc ces corps gras existent, et la digestion élective des protéines doit logiquement les faire apparaître. De telles expériences ont été faites.

Noll (52) a fait digérer du tissu musculaire à l'aide de pepsine dans une solution diluée d'acide chlorhydrique pendant 12 heures et jusqu'à trois fois 24 heures. Des gouttes de graisse apparaissent et deviennent de plus en plus grosses. Ces gouttes de graisse peuvent être directement observées ou colorées. Les images obtenues ressemblent à celles qu'on observe lors de la dégénérescence graisseuse des muscles. *Müller* (50) rapporte des expériences de digestion avec de la trypsine sur des foyers d'artériosclérose, qui étaient histo-chimiquement francs de corps gras. Après cette digestion, de la graisse est apparue dans les foyers de l'intima. Il cite des expériences analogues de *Romeis*. *Aschoff* (3) signale le fait dans son manuel d'anatomie pathologique.

Remarquons que deux explications restent possibles :

a) Les lipides sont étroitement liés aux protéines. La destruction des protéines libère les corps gras.

b) Les corps gras forment une émulsion très fine, stabilisée par les protéines. La destruction des protéines a pour conséquence la destruction de l'émulsion. Les fines gouttes de graisse confluent en des gouttes plus grandes. Elles deviennent ainsi visibles. Nous verrons que la lécithine favorise également l'émulsion des gouttes de graisse.

3. Application à la pathologie.

Une question se pose : dans quelles conditions pathologiques une destruction élective des protéines peut-elle se produire ? On songe immédiatement à l'apparition de ferments protéolytiques produits par les bactéries ou les leucocytes. *Porter* (57) dit que le pouvoir protéolytique des bactéries varie énormément d'une espèce à l'autre, et chez la même espèce, il n'est pas constant. Par exemple *Clostridium perfringens*, *Proteus vulgaris* possèdent de tels ferments. Mais une digestion élective des protéines n'est pas toujours possible parce que beaucoup de bactéries produisent également des lipases et même des phosphatases et plus particulièrement des lécithinases (*Mycobacterium tuberculosis*, *mycobacterium lepræ*).

Une action analogue doit se produire dans les expériences d'implantation rapportées par *Müller* (51) et *Letterer* (43). *Letterer* obtient une zone périphérique nécrotique qu'il attribue à l'action des enzymes de l'animal recevant l'implantation. Puis il remarque une zone contenant beaucoup de graisses libres qui par la suite empêchent la progression des enzymes

vers le centre. L'apparition des graisses serait due à la destruction des albumines. *Aschoff* (3) et *Hueck* (37) décrivent une infiltration graisseuse à la périphérie de certaines nécroses. Ils admettent que la graisse contenue dans le tissu mortifié, libérée par la destruction des protéines, a été absorbée par le tissu sain environnant. *Cohrs* (18) mentionne des dégénérescences graisseuses dans plusieurs cas de dystrophies hépatiques avec nécroses. Il envisage la possibilité d'une stéatose secondaire, faisant suite à une nécrose primaire (19). *Fischler* (27) signale l'apparition simultanée de nécroses et de stéatoses dans des complications de narcoses au chloroforme ou des états allergiques.

4. Autolyse.

Un tissu animal, et en particulier un organe comme le foie, abandonné à lui-même dans des circonstances déterminées et à une température donnée, subit des transformations de structure appelées autolyse. Ces transformations sont produites par les enzymes contenus dans l'organe, et aussi par les substances, notamment les acides qui apparaissent au cours du processus. Une condition essentielle, c'est que le tissu ne soit pas infecté, ce qui conduirait à la putréfaction. La température conditionne la vitesse du processus, ou l'arrête si elle est très basse. Des graisses apparaîtront-elles au cours de l'autolyse ? Théoriquement, cela n'est pas sûr. Car il existe aussi bien des lipases que des protéinases. Si les protéinases sont plus actives, et plus rapides que les lipases, on peut s'attendre à voir apparaître des gouttes de graisse libérées, comme dans la digestion élective. Mais si les lipases et les protéinases agissent en même temps, la destruction des lipides suivra aussitôt leur apparition. On trouve quelques expériences d'autolyses dans la littérature.

Les expériences de Hauser (35) en 1886, sont les plus anciennes sur ce sujet. Mais elles n'avaient pas pour but directement une étude de l'infiltration graisseuse du foie. *Hauser* voulait montrer qu'un tissu animal sain ne contient pas de bactéries. Pour cela, il extirpa, aussitôt après la mort de l'animal utilisé, un certain nombre d'organes, en prenant le plus possible de précautions d'aseptie. Il les conserva ensuite à une température de 37° pendant des semaines, des mois, et même plus d'une année. Par la même occasion, *Hauser* décrit quelques transformations histologiques, et en particulier, dit voir apparaître au bout de 10 à 15 jours des gouttes de graisse dans le foie, les reins et les muscles. Selon lui, ces transformations sont identiques à celles que l'on observe dans la dégénérescence graisseuse du foie ou des organes envisagés. Mais *Hauser* n'employait aucune méthode de coloration des corps gras. Il ne dit pas explicitement, s'il a comparé l'état de l'organe après deux semaines d'autolyse à l'état de ce même organe

aussitôt après l'extirpation. Il semble également admettre que la graisse visible après l'autolyse, a été formée durant ce processus.

C'est surtout contre cette affirmation que s'élève *Kraus* (40) l'année suivante. *Kraus* répète les expériences de *Hauser*, en évitant autant que possible les contaminations extérieures. Il compare l'aspect histologique et une analyse chimique par extraction à l'éther. Par ce procédé, *Kraus* ne constata aucune augmentation chimique des corps gras après deux ou quatre semaines d'autolyse. Les transformations histologiques décrites par *Kraus* concernent surtout la disparition du noyau. Il décrit tous les stades intermédiaires depuis le déplacement de la chromatine vers la membrane nucléaire, jusqu'à la caryorrhexis et la caryolyse. Les tissus conservent leur structure qui devient homogène, hyaline. Les cellules deviennent plus petites en perdant de l'eau. *Kraus* pense que si des gouttes de graisse apparaissent, elles sont nées de la fusion de gouttes plus petites dans un milieu liquide.

Orgler (53) étudie l'apparition de protagon dans les reins au cours de l'autolyse et dans certains états pathologiques. Ce protagon deviendrait visible, et se cristalliserait au cours de ce processus.

Waldvogel (80) n'admet pas les conclusions de *Kraus*. Il critique sa méthode d'extraction par l'éther. Il pratique lui-même une extraction par l'éther et par l'alcool, et croit constater une augmentation des lipides au cours de l'autolyse, qu'il provoque à basse température. Des recherches chimiques récentes sont celles de *Sperry*, *Brand* et *Copenhauer* (70). Selon eux, la cholestérine n'est pas détruite par l'autolyse. Les phosphatides sont détruits, mais relativement moins que les protéines. Si bien que la concentration relative de la cholestérine et des phosphatides augmente pendant l'autolyse. *Roger* et *Binet* (61) mesurent le pouvoir lipolytique du foie et constatent une perte en matières grasses de 41 % en 48 heures. *Abelous* et *Soula* (1) prétendent, à la suite d'analyses chimiques, que la quantité de cholestérine augmente dans la rate et aussi dans le foie pendant une autolyse stérile, pour diminuer par la suite. La question est donc très complexe et les résultats ne concordent pas toujours. Il semble toutefois que s'il y a augmentation histologique de lipides, cette augmentation n'est que relative, ce qui rendrait également possible une augmentation histo-chimique des corps gras au cours de l'autolyse.

Nous avons voulu nous rendre compte si l'autolyse pouvait amener un état donnant l'impression d'une dégénérescence graisseuse microscopique. Pour cela nous avons fait quelques expériences que nous rapportons en fin de chapitre.

5. Expériences de digestion.

Pour les expériences de digestion, nous avons utilisé des solutions de pepsine et de trypsine selon les formules suivantes :

<i>Pepsine :</i>	Pepsine	0,3 g.
	Eau distillée	100 cm ³
	Acide chlorhydrique conc.	0,2 cm ³
<i>Trypsine :</i>	Trypsine	0,1 g.
	Solution de carbonate de sodium fraîchement préparée à 10 %	6,7 cm ³
	Eau distillée	33 cm ³

Nous avons employé des foies de chiens tués accidentellement ou sacrifiés, sans maladie grave, par leur propriétaire. Ces foies étaient macroscopiquement sains et non suspects de stéatose. Avec quelques précautions, mais sans rechercher une aseptie totale, nous avons divisé un bloc du foie en un certain nombre de morceaux dont les dimensions moyennes étaient $12 \times 8 \times 5$ mm. L'un de ces morceaux était placé immédiatement dans une solution de formol à 10 %. D'autres morceaux étaient placés dans des solutions d'acide chlorhydrique sans pepsine ou de carbonate de soude sans trypsine, à titre de contrôle. Les autres morceaux, pour l'expérience proprement dite, étaient mis dans des tubes contenant une solution de pepsine ou de trypsine selon les formules indiquées plus haut. Tous les tubes, sauf celui qui contenait de la formaline, étaient placés dans une couveuse à 37°. On les retirait, selon les besoins de l'expérience, après 1, 2, 3, 6, 12, 18, 24 ou 48 heures. Nous avons fait neuf expériences soit avec de la pepsine, soit avec de la trypsine ou avec les deux. En général les tubes restèrent stériles. Nous avons par précaution ajouté quelques cristaux de thymol dans les tubes contenant la trypsine. Dans un cas où nous n'avions pu prendre le foie que quelques heures après la mort du chien, une putréfaction intense s'établit et de nombreuses bactéries étaient visibles dans les coupes. Le thymol, et même l'acide chlorhydrique ne purent enrayer leur développement.

Dès qu'on les retirait de la couveuse, les morceaux de foie partiellement digérés étaient placés dans une solution de formol à 10 %. Les coupes à la congélation furent colorées au Soudan III et dans plusieurs cas également à l'acide osmique, selon la technique indiquée par Romeis (62) et Roulet (64). Les morceaux de foie étaient en général coupés de telle façon que les coupes obtenues soient allongées et étroites. Ainsi il est plus facile d'obtenir une bordure à peu près intacte.

6. Résultats des expériences de digestion.

Après 1 ou 2 heures :

Une bordure très mince marque une coloration plus intense à l'hémaxyline-éosine. Les noyaux sont déjà en pycnose. Au centre de la coupe

les cellules paraissent intactes. Après une heure de digestion, les gouttes de graisse très fines, déjà présentes au début de l'expérience, semblent un peu plus grosses et un peu plus denses en bordure. Elles sont plus foncées. Mais ce résultat n'est pas constant et reste subjectif.

Après 3 à 6 heures :

En bordure les cellules hépatiques semblent ratatinées. Elles forment des travées plus minces et plus éloignées les unes des autres que la normale. Dans une des coupes colorées au Soudan, une bordure montre un contraste très net avec le centre. Les gouttes sont plus denses et plus grosses, parfois irrégulières et extracellulaires. Mais ces gouttes se trouvent dans des cellules en partie détruites et amincies. La même concentration des gouttes de graisse en bordure est visible sur une autre coupe colorée à l'acide osmique.

Dans une troisième expérience, la bordure est partiellement d'une coloration rouge-brun irrégulière. Cette coloration semble indiquer l'apparition de corps gras, mais ne donne pas l'impression d'une infiltration graisseuse.

Tous ces résultats ont été obtenus avec de la pepsine.

Après 15 à 20 heures :

Les cellules hépatiques, colorées à l'hématoxyline-éosine montrent des noyaux petits, ronds, et foncés ou au contraire très pâles. On remarque une cryorrhéxis partielle. Les érythrocytes sont mal teints, peu nets, en partie détruits. A la coloration au Soudan, on reconnaît en bordure, des travées hépatiques minces, avec des noyaux homogènes et bleu foncé. Ces travées ont presque partout une couleur rouge-brun. On distingue quelques taches rondes, mais il s'agit surtout d'une coloration diffuse et granuleuse. Cette coloration est certainement produite par des lipides, mais elle ne donne pas l'impression d'une infiltration graisseuse telle qu'on la rencontre en pathologie.

Après 24 à 30 heures :

Les noyaux ont complètement disparu, le plus souvent. Parfois ils sont en pycnose, mais bien visibles. La structure du foie est reconnaissable, mais les cellules sont floues. Elles contiennent parfois un pigment brun dans la coloration à l'hématoxyline-éosine. Colorée au Soudan, la bordure montre des travées hépatiques très minces, sans noyaux visibles, remplies de gouttes irrégulières rouge-brun, plutôt petites, et en partie situées en dehors des cellules.

Après 48 heures :

S'il existe encore des noyaux, ils sont comme une ombre, très pâles, avec un contour très net et foncé. Les cellules sont fortement acidophiles et homogènes. A la coloration au Soudan III, on remarque une nette différence de teinte entre la bordure et le centre. Le centre est bleu, la bordure brun-rougeâtre. Les travées hépatiques sont visibles, mais les cellules sont spongieuses, à peine reconnaissables.

Morceaux de foie sans pepsine ni trypsine.

Les morceaux de contrôle, placés dans des solutions de carbonate de soude sans trypsine, ou d'acide chlorhydrique sans pepsine ne montrent jamais de phanérose. Cependant la bordure est parfois altérée.

Aucune phanérose n'a été obtenue avec de la trypsine. Tous les résultats positifs sont dus à une solution de pepsine dans de l'acide chlorhydrique dilué.

7. Récapitulation des résultats.

a) Dans les expériences de digestion à la pepsine, on voit apparaître au bout de 3 heures, en bordure, des gouttes de graisse plus grosses et plus denses.

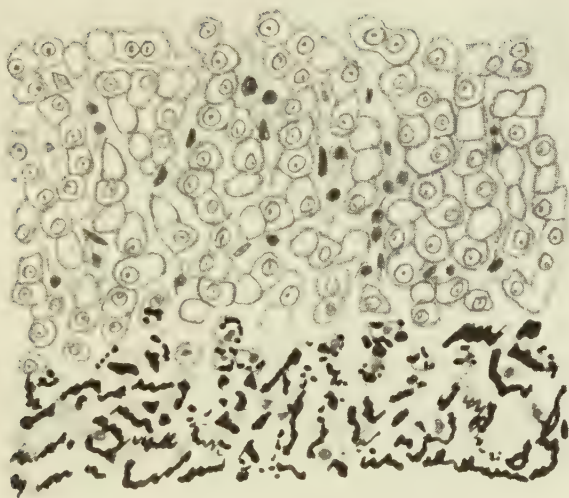
b) Entre 15 et 48 heures, on remarque en bordure une coloration rouge-brun dans des cellules fortement endommagées. Cette coloration est diffuse et granuleuse. Quelques gouttes de graisse semblent situées en dehors des cellules hépatiques.

c) Les essais de digestion à la trypsine n'ont jamais donné de résultats nets.

8. Expériences d'autolyse.

Pour les expériences d'autolyse, nous avons utilisé au début également des foies de chiens sacrifiés ou tués accidentellement. Ces foies étaient brûlés superficiellement, et avec des instruments stériles, on découpait en profondeur, des morceaux d'environ 2 cm. de côté. On les mettait immédiatement dans des flacons stériles, contenant une solution isotonique de chlorure de sodium. Souvent, nous avons ajouté quelques cristaux de thymol. Plusieurs expériences ne furent pas utilisables, parce que les morceaux de foie n'étaient pas stériles. Nous avons cru, d'abord, que nous pourrions obtenir un résultat en 2, 3 ou 4 jours. Mais jamais, nous ne pouvions constater de stéatose. Nous avons placé les morceaux de foie dans une couveuse à 37° et après des temps variables, nous les enlevions pour les mettre dans une solution de formol à 10 %. Les coupes à la congélation ont été colorées au Soudan III, parfois à l'acide osmique. Nous avons fait également des coupes à la paraffine et des colorations à l'hématoxyline-éosine.

Voyant l'inutilité des expériences de courte durée, et après l'étude des travaux de Hauser, nous avons décidé de faire deux expériences complémentaires en laissant les morceaux de foie dans la couveuse pendant 3, 6, 9, 12, 14 et 17 jours. Pour cela, nous avons utilisé 2 cobayes fraîchement tués. Nous avons obtenu les foies par une opération stérile. Après avoir enlevé la peau, nous avons brûlé superficiellement la couche musculaire



Digestion en bordure
En noir : les gouttes de graisse
fusionnent en masses irrégulières
Après 24 heures

Fig. 2

et incisé avec des instruments stériles. Les morceaux de foie, plus petits que ceux que fournissaient les chiens, ont été placés dans des flacons stérilisés contenant une solution isotonique de chlorure de sodium.

Contrôle de la stérilité. Tous les tubes restèrent stériles jusqu'au 17^{me} jour. Des essais de culture sur plaque d'agar furent négatifs. Mais nous n'avons pas contrôlé tous les tubes ou flacons. Nous nous sommes contentés le plus souvent, de veiller à l'odeur, qui doit rester agréable. La présence de bulles de gaz et des morceaux de foie qui surnagent sont un signe certain de putréfaction.

9. Résultat des expériences d'autolyse.

Nous avons comparé les coupes histologiques :

- a) des morceaux que nous avons placé immédiatement dans le formol ;
- b) des morceaux qui ont subi une autolyse stérile de durée variable ;
- c) et par curiosité de quelques morceaux qui ne sont pas restés stériles.

Nous avons concentré notre attention sur l'apparition éventuelle de gouttes de graisse colorées au Soudan ou à l'acide osmique.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Après 2 à 3 heures :

La structure cellulaire est à peu près semblable à celle du témoin. Les noyaux sont en général intacts, quelques-uns sont un peu ridés. Les érythrocytes sont nets et bien colorés. Coloration au Soudan III : les gouttes de graisse présentes au départ sont encore visibles sans augmentation ni diminution appréciable.

Comparaison : Un cas avec début de putréfaction. Des bactéries étaient déjà visibles dans le morceau que nous avons placé immédiatement dans le formol. Une infection avait donc eu lieu dans le cadavre même du chien. Après 3 heures, les noyaux ont en partie disparu. Les autres sont petits, homogènes et fortement colorés, ou au contraire très pâles avec des contours très nets. Les érythrocytes sont en partie détruits et mal colorés.

Après 5 à 8 heures :

Hématoxyline-éosine : les noyaux sont bien visibles. Certains sont fanés. Les érythrocytes sont bien colorés et intacts. Soudan : pas de différence avec le morceau placé immédiatement dans la formaline.

Après 12 à 15 heures :

Les noyaux deviennent pycnotiques ou pâles, à peine visibles. Les érythrocytes n'ont plus une belle couleur orange. Soudan : pas de différence.

Après 18 à 24 heures :

Les noyaux sont fortement pycnotiques. Les érythrocytes ne sont plus colorés. Le protoplasme des cellules hépatiques contient un pigment brun. Soudan : pas d'augmentation de corps gras.

Comparaison : 1 cas avec début de putréfaction. Le protoplasme est spongieux avec de nombreuses lacunes. Les noyaux sont invisibles ou si pâles qu'on a de la peine à les distinguer. Les travées hépatiques sont espacées. Les capillaires sanguins paraissent vides. Pas de graisse visible, sauf dans les canaux excréteurs de la bile, où elle se trouvait déjà avant l'autolyse. Les corps gras sont manifestement détruits par la putréfaction.

Après 48 heures :

Les noyaux sont encore visibles et ratatinés, les travées hépatiques paraissent très espacées, les limites cellulaires peu nettes.

Soudan : pas de graisse nouvelle.

Tous les cas infectés ne contiennent plus de noyaux et les cellules sont spongieuses avec de nombreuses lacunes.

Après 3 jours :

Les noyaux qui existent encore sont petits, fortement colorés. Les travées hépatiques montrent beaucoup de lacunes. Dans la coloration au Soudan III elles prennent, à un grossissement moyen, un ton jaune-orange. Mais un grossissement plus fort ne permet pas de distinguer des gouttes de graisse. On peut penser à un début de décomposition des gouttes de graisse par des lipases.

Expériences avec les foies de cobaye.

Première expérience : Le morceau de foie placé immédiatement dans le formol montre des cellules bien dessinées et compactes. Les noyaux sont ronds et très nets. On ne voit pratiquement pas de graisse colorable au Soudan III. Du 3^{me} au 17^{me} jour les noyaux ont disparu, mais les travées hépatiques restent reconnaissables. On distingue les lobules et la veine centrale. Les cellules hépatiques sont granuleuses, spongieuses, indistinctes. A la coloration au Soudan, elles prennent un ton brun-rouge. Mais dans aucune des coupes on ne peut constater la présence de gouttes de graisse.

Deuxième expérience : A la coloration au Soudan III, le morceau placé immédiatement dans la formaline contient des gouttes de graisse petites et très petites, placées irrégulièrement, souvent par îlots, sans préférence de situation. La quantité totale de graisse visible est faible. Pendant l'autolyse les cellules deviennent spongieuses et ont le même aspect que dans la première expérience. A partir du 7^{me} jour, elles contiennent des gouttes assez grosses, plus denses par endroit, et colorées au Soudan d'un rouge-brun foncé. Elles donnent l'impression d'être des gouttes de graisse, mais elles sont placées dans des cellules sans noyau et en partie détruites. Elles n'ont pas la coloration rouge franc ou même jaune, que l'on peut trouver dans une préparation histologique normale. Autrement dit, elles ne ressemblent pas du tout à l'image habituelle d'une stéatose. Au 15^{me} jour, de telles gouttes ne sont plus visibles.

10. Récapitulation des résultats des expériences d'autolyse :

a) Une stéatose n'a jamais été provoquée par l'autolyse de morceaux de foie à 37° au cours des 6 premiers jours.

b) A partir du 7^{me} jour, dans un cas, on vit apparaître des gouttes colorées au Soudan III d'un teint rouge-brun foncé, qui peuvent donner l'impression d'être des gouttes de graisse.

c) Mais l'image obtenue ne ressemble pas à une stéatose.

11. Conclusion :

Dans nos expériences de digestion et d'autolyse, nous avons obtenu des résultats partiels. Nous savons que des gouttes de graisse peuvent apparaître au cours d'une digestion à la pepsine. Il est probable que des gouttes de graisse apparaissent également à certaines périodes de l'autolyse.

Mais de tels phénomènes se produisent toujours dans des cellules fortement endommagées, c'est-à-dire après destruction des protéines. De plus, la coloration au Soudan III n'est pas toujours très nette. Elle est altérée et se rapproche plus du brun que du rouge. Ceci laisse supposer une transformation chimique des graisses, qui provoquerait cette différence de coloration. Une telle image ne rappelle donc pas une stéatose, telle qu'on a l'habitude de la voir, avec une coloration franche, et des cellules pourvues de noyau, même si celui-ci est déplacé ou altéré.

III. INFLUENCE DES PROTÉINES SUR L'ÉMULSION DES GRAISSES

Plusieurs expérimentateurs ont montré, comme nous l'avons fait dans les expériences rapportées au chapitre précédent, que la destruction des protéines de la cellule par des enzymes cellulaires (autolyse) et par des enzymes digestifs peut modifier la morphologie et la coloration des graisses cellulaires. Nous allons maintenant traiter sous un autre angle, l'étude expérimentale de l'influence des protéines sur l'émulsion des corps gras dans la cellule. *Fischer* et *Hooker* (26) voient dans la cellule une émulsion de lipides dans un système colloïdal formé par les protéines. Si cette émulsion est suffisamment fine, les gouttelettes de graisse, plus petites que $0,1\ \mu$ ne sont pas visibles au microscope. Si pour une raison quelconque, les gouttes de graisse fusionnent, et forment des gouttes plus grandes, elles deviennent visibles, et donnent l'impression microscopique de ce que nous appelons actuellement une stéatose. *Fischer* donne un certain nombre de ces raisons. Les unes viennent des lipides eux-mêmes. Les autres dépendent des protéines. Nous citerons les principales.

1. Les théories de *Fischer* et *Hooker*.

a) La concentration des protéines :

Une émulsion devient plus grossière si l'on dilue le milieu stabilisateur, par exemple en ajoutant de l'eau distillée. Un œdème cellulaire comme celui qui apparaît dans ce qu'on appelle une hépatite séreuse, serait donc le premier pas qui conduit à une stéatose. Inversement, en diminuant la quantité d'eau, ce qui correspond au dessèchement d'un tissu, on diminuerait la stabilité d'une émulsion. Autrement dit, la stabilité d'une émulsion dépend partiellement de sa teneur en eau.

b) Adjonction de certaines substances :

Les émulsions stabilisées par des protéines sont détruites par des acides qui coagulent les protéines.

Les acides détruisent également les émulsions stabilisées par des savons. L'éther, le chloroforme et l'alcool ont une action analogue.

La coagulation des protéines, qui provoque microscopiquement l'aspect d'une granulation, correspondrait à une dégénérescence protéinique. Elle

précéderait donc, elle aussi la stéatose. *Fischer* est tenté de rapprocher l'action physique du chloroforme, de l'éther et de l'alcool (destruction d'une émulsion) de leur action physiologique (stéatose).

c) Concentration des corps gras :

Plus la quantité de lipides contenus dans une émulsion est grande par rapport au milieu stabilisateur, plus il est difficile de maintenir une émulsion très fine. Donc, si la quantité de lipides amenés au foie est augmentée, une stéatose pourrait apparaître. C'est le cas lors de la mobilisation des dépôts graisseux dans le jeûne, les empoisonnements et certaines infections.

2. Discussion.

Les théories de *Fischer* et *Hooker* semblent séduisantes. Nous sommes prêts à admettre que les facteurs physiques peuvent jouer un rôle important dans le mécanisme des stéatoses. Et pourtant nous le croyons moins que *Fischer*. Parce que depuis, on a découvert plusieurs facteurs physiologiques qui semblent jouer un rôle plus important encore. Cependant, les conclusions de *Fischer* restent vraies. D'après *Adam* (2) les émulsions, ou dispersion d'un liquide dans un autre sont de deux types. L'un représente une dispersion très fine de petites gouttelettes d'huile dans de l'eau. Leur stabilisation semble due aux charges électriques de leur surface. L'autre type d'émulsion, le plus commun, dépend beaucoup pour sa stabilité, de la nature d'un film interfacial. Ce film est généralement formé par une troisième substance, différente des deux autres phases, mais peu soluble dans l'une d'elles. Cette substance est présente entre deux liquides dont l'un est dispersé dans l'autre. Une des fonctions principales de ce film est de diminuer la tension superficielle en augmentant l'adhésion entre les deux phases. D'autres facteurs que la tension superficielle peuvent jouer un rôle dans la stabilisation d'une émulsion. Le film interfacial peut être mobile ou rigide, ce qui modifie la viscosité. Selon *Adam*, une structure semi-solide comme celle des protéines ou de la gélatine en particulier, est très favorable au maintien d'une émulsion stable. Une membrane dite haptogène est considérée comme un agent stabilisateur de la crème dans le lait, en plus de l'action repoussante des charges électriques de même sens.

3. L'inversion des émulsions.

Signalons ici un phénomène noté par *Fischer* aussi bien que par *Adam* : il s'agit de l'inversion des émulsions. Une émulsion d'huile dans de l'eau peut devenir une émulsion d'eau dans de l'huile. Ce phénomène selon

Fischer pourrait jouer un rôle en biologie et serait la cause de variations importantes de consistance. (Le lait est une émulsion de graisse dans de l'eau, le beurre, une émulsion d'eau dans de la graisse.)

4. Les émulsions dans l'organisme.

Dans une cellule animale, une émulsion de graisses dans un milieu colloïdal albumineux semble être la règle. Les graisses peuvent être neutres, ou phosphorées, ou sont formées d'un mélange de phosphatides et de graisses neutres. La condition nécessaire à la formation d'une émulsion est que les graisses soient liquides à la température de l'organe. *Peters* et *Van Slyke* [(55) p. 414] parlent de l'émulsion des lipides dans le sang. Ils indiquent que la grandeur des gouttes varie de 1 à 2 μ . Après un repas riche en graisse, les gouttes ne sont plus si fines et le plasma apparaît laiteux et qu'il peut même, *in vitro*, se recouvrir d'une couche crémeuse quand on le laisse reposer. Un autre exemple d'émulsion est le lait.

5. Expériences personnelles.

Le but de nos expériences était de créer un mélange artificiel analogue au milieu cellulaire. Il fallait que ce milieu soit liquide et puisse servir à faire une émulsion.

Méthode.

Au lieu de mesurer les gouttelettes de graisse dans ce milieu liquide, nous avons voulu créer des conditions analogues à celles que l'on trouve en histologie. L'émulsion devait être solidifiée, fixée à la formaline, coupée et colorée. Ensuite seulement, on mesurait et comptait les gouttes de graisse. C'est ainsi en effet, que l'on observe les stéatoses dans la pratique histologique. Cette méthode exclut par son principe une exactitude rigoureuse, mais elle ne s'éloigne pas de la réalité concrète. Dans ce chapitre nous exposerons la technique choisie, ses avantages et ses inconvénients, puis nous donnerons le résultat de quelques expériences effectuées en modifiant le mélange albumineux. Dans le chapitre suivant nous emploierons la même méthode pour étudier l'influence de la lécithine.

Choix du milieu.

Pour obtenir un milieu de protéines analogue, mais non identique au milieu cellulaire, nous avons choisi le blanc d'œuf ou le sérum de cheval. Mais il nous fallait obtenir une consistance suffisante pour permettre les coupes à la congélation après fixation à la formaline. Or, l'adjonction de

formol à du sérum ou du blanc d'œuf produit bien une floculation, mais pas une masse compacte utilisable. Des expériences préliminaires, effectuées dans ce but, en ajoutant à 5 cm³ de sérum ou de blanc d'œuf une quantité de formaline variant de 0,2 à 5 cm³ et une concentration de 1 à 10 % à la température ordinaire ne montrèrent pas de coagulation compacte, même après plusieurs semaines. Il aurait donc été possible de faire une émulsion, mais pas de coupes.

L'adjonction de *gélatine* en solutions de 10 à 20 % allait permettre la création d'un milieu liquide à 37° qui se solidifie entre 20 et 0°. Sous l'action de la formaline, la masse reste solide, même si on la réchauffe à 37°. Des essais préliminaires avec du blanc d'œuf, en variant le rapport eau, gélatine et blanc d'œuf ont montré :

a) que la concentration optimale était un mélange à parties égales de gélatine à 12,5 % et de blanc d'œuf ;

b) que l'on peut diminuer la quantité de blanc d'œuf jusqu'à 0,5 cm³ pour 5 cm³ de mélange et le remplacer par de l'eau sans empêcher la solidification ;

c) que 2 cm³ environ de gélatine à 12,5 % pour 5 cm³ de mélange sont nécessaires pour permettre une solidification suffisante.

Avantages de la méthode.

En mélangeant de la gélatine au blanc d'œuf ou au sérum, il est possible de faire une émulsion dans un milieu liquide (le sol colloïdal). Puis par l'action du froid et de la formaline, on obtient un milieu solide stable (le gel colloïdal irréversible). Ce système stable peut être coloré, ce qui facilite beaucoup la mesure du diamètre des gouttes. Une coloration des gouttes de graisse peut aussi être obtenue dans un milieu liquide. *Cole et Smith* (20) donnent une recette de coloration utilisable pour les produits laitiers. Mais une émulsion peut se modifier en quelques jours, et les mesures doivent être simultanées pour permettre une comparaison. Dans un milieu solide, cet inconvénient n'existe pas et les gouttes de graisse ou d'huile restent immobiles.

Inconvénients de la méthode.

S'il s'agissait d'une étude physique des émulsions, il y aurait quelque inconvénient à mesurer des gouttes de graisse après solidification du milieu. On pourrait craindre à juste titre des déformations importantes. Mais comme le but de ces expériences est d'imiter autant que possible les conditions existant en histologie, cet inconvénient ne joue aucun rôle. De plus, il s'agit d'une comparaison, et les conditions sont les mêmes pour chacun des termes à comparer. Il nous faut donc souligner tout de suite que les chiffres donnés ne peuvent avoir qu'une valeur relative. On pourrait craindre aussi l'influence des bulles d'air qui se forment obligatoirement pendant

l'agitation. Mais ces bulles d'air sont une cause d'erreur constante. Elles ne déforment d'ailleurs que les gouttes de graisse qui leur sont immédiatement voisines. Des essais avec des perles de verre n'ont pas donné de bons résultats.

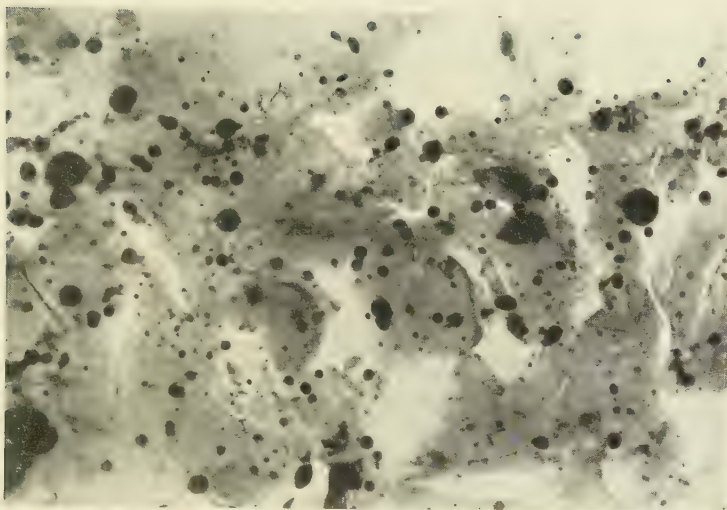
Préparation des émulsions.

Lorsque tous les tubes d'une expérience doivent contenir le même mélange de blanc d'œuf et de gélatine, il est avantageux de préparer en même temps toute la quantité nécessaire. On obtient ainsi une masse plus homogène et l'on est plus sûr d'avoir un mélange identique dans chaque tube. On prépare la solution de gélatine à 12,5 % à une température voisine de 40° au bain-marie. On remue ensuite la gélatine avec une quantité égale de blanc d'œuf jusqu'à ce qu'on obtienne une masse homogène. On peut remplacer le blanc d'œuf par du sérum. Nous avons ensuite mesuré la quantité nécessaire du mélange (5 ou 10 cm³) que nous avons réparti dans un certain nombre de tubes de même dimension. Les tubes restaient dans une couveuse à 37° pendant que nous ajoutions l'huile nécessaire, mesurée avec une pipette. Les tubes furent fermés par des bouchons de caoutchouc préalablement passés à l'eau bouillante.

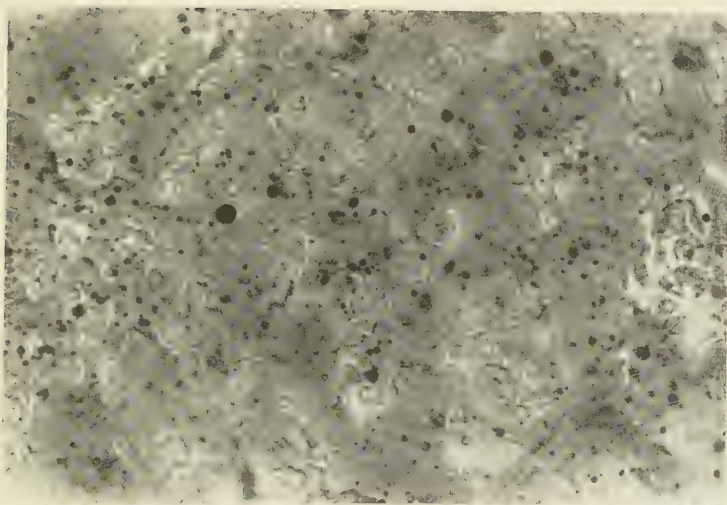
Agitation des tubes : Les tubes furent secoués à la main, très vivement, pendant 15 ou 20 minutes. Pour obtenir une agitation identique des tubes qui devaient être comparés, ceux-ci furent placés dans une boîte cylindrique, de carton ou de métal. Pour maintenir la température initiale de 37° chaque tube était enveloppé dans du papier journal, qui se montra un isolant suffisant. Une agitation rapide à la main de durée relativement courte s'avérant suffisante, nous avons renoncé à faire construire une machine dans le genre de celle qu'employait *Fischer* (26). D'ailleurs d'après les indications d'*Adam*, la courbe de distribution des gouttes dans une émulsion marque une pointe pour un diamètre d'environ 2 μ . Cette pointe semble assez indépendante de la façon de préparer l'émulsion. Et *Harkins* (34) dit que la grandeur des gouttes peut varier, selon que l'on emploie un batteur ou un mélangeur ou que l'on agite à la main. Mais, fait remarquable, la position du sommet de la courbe, ne change pas.

Préparation des coupes.

En règle générale, après l'agitation, les tubes furent refroidis, soit à 4°, soit à la température ambiante. Avant le refroidissement, nous avons ajouté parfois 1 cm³ de formaline à 10 % dans chaque tube. Dans d'autres cas, cette adjonction n'eut pas lieu. Nous n'avons pas remarqué de différence dans le résultat. Souvent, les émulsions furent laissées à l'état liquide dans la couveuse pendant un temps plus ou moins long avant d'être refroidies, pour juger de leur stabilité. Quand le mélange était suffisamment ferme, le contenu des tubes était extrait en un seul bloc cylindrique. Le plus simple



N° 110
Sans lécithine
Fig. 3



N° 111
Avec lécithine
Fig. 4

était de décoller la périphérie touchant le verre avec une aiguille à tricoter, puis de frapper les tubes renversés, d'un mouvement sec sur un objet mou, un coussin par exemple. On coupait ensuite une ou plusieurs tranches de 3 à 4 mm. d'épaisseur, de préférence selon un plan passant par le centre des deux bases du cylindre. Les tranches ainsi préparées furent placées pendant environ 48 heures dans une solution de formol à 10 %. Les coupes à la congélation furent colorées au Soudan III, exceptionnellement à l'acide osmique.

Mesure des gouttes de graisse.

Nous avons mesuré les gouttes de graisse en employant l'immersion huilée et un oculaire micrométrique. Une unité de l'échelle de l'oculaire correspondait à 1,3 μ . Nous avons groupé, pour les résultats, les gouttes en un certain nombre de classes. Par exemple les gouttes de 0,1 à 0,7 dans la colonne 0,5. De 0,8 à 1,7 dans la colonne 1,5 ; de 1,8 à 2,7 dans la colonne 2,5 et ainsi de suite. Cette classification se justifie à cause des conditions de ce genre de mesures. Les gouttes sont placées dans des plans différents. Il ne faut mesurer que les gouttes qui sont placées exactement dans le plan de vision nette. De plus, certaines gouttes, surtout les plus grosses, ne sont pas rondes. Le principe consistait à mesurer toutes les gouttes dans une surface donnée, un champ visuel par exemple, et seulement les gouttes nettes. On peut aussi mesurer toutes les gouttes d'une surface restreinte, en faisant jouer la vis micrométrique. Il fallait ensuite changer méthodiquement le champ visuel, de façon à obtenir une vue exacte de l'ensemble de la coupe. En général l'aspect de la coupe était homogène. Ces mesures demandent une certaine habitude et doivent comporter un facteur d'erreur personnel. L'état d'attention, donc aussi la fatigue jouent un rôle important. C'est pourquoi nous avons choisi des groupements en classes relativement vastes.

Essai préliminaire : blanc d'œuf ou sérum.

Nous avons d'abord voulu voir si nous obtenions des résultats différents avec du sérum qu'avec du blanc d'œuf. Deux tubes de 2 cm. de diamètre et 7 cm. de hauteur et fermés par des bouchons pénétrant de 1,5 cm. furent agités ensemble. Voici leur contenu respectif :

<i>Tube N° 81</i>		<i>Tube N° 82</i>	
Gélatine 12,5 %	3 cm ³	Gélatine 12,5 %	3 cm ³
Blanc d'œuf	3 cm ³	Sérum	3 cm ³
Huile d'olive	0,2 cm ³	Huile d'olive	0,2 cm ³

Nous avons mesuré 1000 gouttes par tube. Les résultats sont indiqués dans le tableau suivant :

Diamètre des gouttes	Nombre de gouttes %	
	Tube N° 81	Tube N° 82
Plus de 9,5	2,6	1,0
9,5	0,6	0,4
8,5	1,0	0,6
7,5	2,8	1,2
6,5	2,0	2,2
5,5	4,1	4,4
4,5	5,4	4,8
3,5	10,8	10,8
2,5	15,9	18,6
1,5	34,6	39,8
0,5	20,2	16,2

Les différences sont faibles.

Une autre expérience, avec des tubes de 2,5 cm. de diamètre et 10 cm. de hauteur a donné des résultats analogues.

Tube N° 30

Gélatine 5 cm³
Blanc d'œuf 5 cm³
Huile d'olive 0,2 cm³

Tube N° 31

Gélatine 5 cm³
Sérum 5 cm³
Huile d'olive 0,2 cm³

Nous donnons les résultats dans le tableau suivant :

Diamètre des gouttes	Nombre de gouttes %	
	Tube N° 30	Tube N° 31
Plus de 9,5	2,3	2,2
9,5	1,0	1,0
8,5	1,4	0,9
7,5	1,6	1,0
6,5	2,3	1,5
5,5	4,4	3,3
4,5	4,7	5,2
3,5	9,1	7,8
2,5	15,0	14,2
1,5	37,2	36,5
0,5	21,0	26,4

Il semble donc indifférent de remplacer le sérum par du blanc d'œuf ou vice-versa.

Variation de la quantité de blanc d'œuf.

Une variation de la quantité de blanc d'œuf n'amena aucune différence appréciable dans la limite de nos expériences, c'est-à-dire tant que le milieu gélatine-blanc d'œuf reste ferme à une température d'environ 15°.

Nous avons remplacé le blanc d'œuf par de l'eau pour avoir la même quantité de mélange dans chaque tube. Voici, à titre d'exemple, les résultats obtenus avec les tubes N° 140 et 145 :

N° 140		N° 145	
Blanc d'œuf	3 cm ³	Blanc d'œuf	0,5 cm ³
Gélatine 12,5 %	2 cm ³	Gélatine	2 cm ³
Eau distillée	0 cm ³	Eau distillée	2,5 cm ³
Huile d'olive	0,2 cm ³	Huile d'olive	0,2 cm ³

Diamètre des gouttes	Nombre de gouttes %	
	Tube N° 140	Tube N° 145
Plus de 5,5	11,5	11
5,5	4	6
4,5	8,5	7
3,5	14	11
2,5	17,5	21,5
1,5	37	36,5
0,5	7,5	7

Ces résultats ont été obtenus sur quelques centaines de gouttes. Les différences ne sont pas grandes. Lorsque deux émulsions sont foncièrement différentes, il est possible en général de le constater à première vue. Et chaque centaine de gouttes, comptée séparément, donne une image de l'ensemble.

Adjonction d'acides.

L'adjonction d'acides faibles (acide acétique) ou d'acides forts (acide chlorhydrique) de faible concentration, ne modifie pas sensiblement le pH. Aussi cette adjonction n'a pas d'influence sur la grandeur des gouttes de graisses dans une émulsion stabilisée par des protéines. Nous avons essayé en ajoutant à 10 cm³ de mélange gélatine-blanc d'œuf 0,5 cm³ d'acide acétique à 10 % ou de 1 à 3 cm³ d'acide chlorhydrique dilué (0,4 cm³ d'acide chlorhydrique concentré dans 100 cm³ d'eau distillée). Nous ne pûmes constater aucune différence appréciable.

L'adjonction d'acide chlorhydrique plus concentré a une action assez nette.

Nous avons employé la solution :

Acide chlorhydrique concentré	1 cm ³
Eau distillée	10 cm ³

Le pH fut mesuré avec un papier indicateur :

Trois tubes contenaient les mélanges suivants :

	N° 190	N° 191	N° 192
	pH 7,5	pH 5,0	pH 2,5
Gélatine	2,5 cm ³	2,5 cm ³	2,5 cm ³
Blanc d'œuf	2,5 cm ³	2,5 cm ³	2,5 cm ³
Lécithine 1			
Huile d'olive 5	0,2 cm ³	0,2 cm ³	0,2 cm ³
Eau distillée	0,9 cm ³	0,6 cm ³	0 cm ³
Acide chlorhydrique	0 cm ³	0,3 cm ³	0,9 cm ³

L'acide et l'eau distillée furent ajoutés après l'agitation, puis les tubes furent placés pendant 20 minutes dans la couveuse à 37° : Le N° 192 ne put être coupé ou coloré. Le mélange avait une consistance semi-fluide. Nous donnons le résultat dans le tableau suivant :

Diamètre des gouttes	Nombre de gouttes %		
	Tube N° 190	Tube N° 191	Tube N° 192
Plus de 8,5	0,1	1,4	non mesuré
8,5	0,2	1,3	
7,5	0,4	1,8	
6,5	0,8	2,3	
5,5	2,1	6,0	
4,5	4,8	8,9	
3,5	10,8	13,9	
2,5	21,9	19,7	
1,5	42,1	36,5	
0,5	16,8	8,2	

Nous avons fait ces adjonctions d'acide plusieurs fois. Dans l'expérience déjà rapportée nous avons pu mesurer les gouttes et constater que l'acidité augmente le nombre des grandes gouttes et diminue le nombre des petites gouttes. Dans d'autres expériences, en particulier avec de la lécithine seule,

les corps gras se séparaient des protéines et l'émulsion était détruite. Ces résultats, visibles macroscopiquement, ne peuvent être représentés par des chiffres.

6. Conclusion.

Nos expériences limitées, et limitées à dessein, parce qu'elles ne peuvent être plus précises que celles de *Fischer* et *Hooker*, ne permettent pas des conclusions trop hardies. Elles nous permettent cependant d'affirmer que les transformations du protoplasme doivent être assez considérables pour provoquer la fusion de gouttelettes fines de lipides en des gouttes plus grosses. Toutefois dans des foyers d'inflammation aiguë l'acidité peut atteindre un pH de 5,0.

IV. INFLUENCE DE LA LÉCITHINE SUR LES ÉMULSIONS D'HUILE D'OLIVE

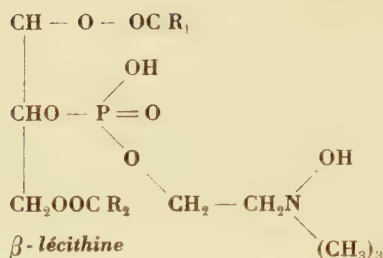
1. *Importance des phosphatides.*

Les phosphatides ou graisses phosphorées forment une partie importante quoique variable des lipides du foie. Une constatation de *W. Frei, Stünzi, Almasy* et *Holzach* (28) a été à l'origine de notre étude théorique et expérimentale de l'importance des phosphatides. En comparant l'analyse chimique de foies de cobayes ou de chiens avec leur aspect histologique, les auteurs remarquent une certaine correspondance entre la quantité relative de phosphatides présents à l'analyse et le degré de stéatose visible au microscope. Plus la quantité relative de phosphatides est grande, moins les corps gras sont histologiquement visibles. Moins il y a de phosphatides, plus la stéatose microscopique est importante.

Deux explications semblent possibles :

a) Nous savons quelle est l'importance de la phosphorisation et de la transformation des graisses neutres en phosphatides pour le transport des corps gras quittant le foie. L'importance de la choline a été constatée au cours de maintes expériences, par exemple celles de *Hörstebroek* (36). L'adjonction de choline à une nourriture riche en graisses diminue la quantité de corps gras dans le foie, tandis que la quantité de phosphatides reste à peu près constante. Ceci laisse supposer que les phosphatides formées ont été transportées, soit en tant que phosphatides, soit en entraînant des graisses neutres. L'importance des phosphatides pour le transport des graisses est indiquée par *Lehnartz* (42). *Sinclair* (69) et *Lehnartz* indiquent également l'importance des phosphatides pour la résorption intestinale des graisses. *Tidwell* (75) montre l'action de la lécithine sur la résorption de l'huile. *Peters* et *Van Slyke* parlent de l'action des phosphatides de la bile sur la dispersion des corps gras digérés [(55) p. 394]. En revanche *Szörényi* (73) et *Müller* (49) trouvent que la lécithine n'a pas d'action sur la solubilité de l'acide oléique ni sur sa diffusion.

b) La deuxième explication consiste à tenir compte de l'action des phosphatides sur la dispersion des émulsions. En particulier les *lécithines* sont hydrophobes par leur groupe glycérine-acides gras, et hydrophiles par leur terminaison acide phosphorique-choline.

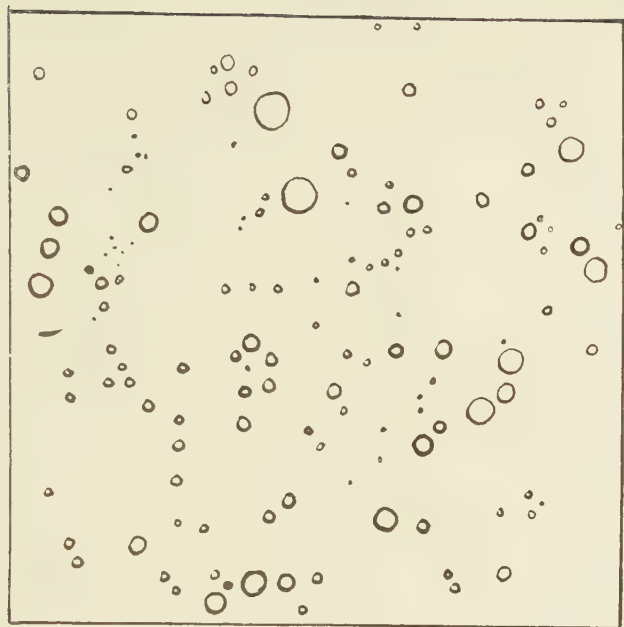


Elles peuvent donc servir de trait d'union entre les graisses neutres et l'eau qui forme la base du milieu cellulaire. La présence de lécithines favoriserait donc la dispersion des graisses en gouttelettes de moins de 0,1 μ . Des expériences sont signalées dans la littérature concernant l'action de la lécithine et des phosphatides en général sur la dispersion des émulsions. Dans l'industrie laitière la lécithine et les phosphatides jouent un rôle dans la stabilisation des globules de graisse, comme l'indique *Perlmann* (54). D'après *Richardson* et *El Rafey* (60) des laits artificiels et des crèmes artificielles ne ressemblent aux produits naturels que si l'on ajoute des phosphatides aux corps gras avant de faire l'émulsion. Les auteurs affirment que les phosphatides doivent être mélangés aux corps gras. Les phosphatides libres n'ont aucune action favorable. Une des publications les plus importantes pour le sujet qui nous occupe, est celle de *Blanquet* et *Duhamel* (14). Les auteurs ont recherché à l'aide tensiomètre de *Dognon* et *Abribat* l'action de la lécithine et du cholestérol à l'interface huile-eau. Ils ont employé l'huile d'olive, qui se rapproche beaucoup des graisses organiques. Ils ont constaté que la lécithine diminue la tension à l'interface huile-eau, ce qui a pour conséquence qu'une émulsion d'huile d'olive en milieu aqueux devient plus fine si l'on ajoute de la lécithine. Le cholestérol n'a aucune action. La lécithine en émulsion dans l'eau n'agit pas.

2. Expériences personnelles.

Nous avons employé la lécithine brute, obtenue à partir du jaune d'œuf, et offerte par la Maison Hofmann-La Roche. Cette lécithine contenait environ 10 % de céphalines. Nous avons utilisé de l'huile d'olive officinel, de composition complexe, pour la même raison que *Blanquet* et *Duhamel* et aussi parce qu'il fallait employer une graisse liquide à la température ordinaire. Nous avons renoncé à l'emploi d'autres huiles ou graisses.

Nous avons mélangé la lécithine et l'huile d'olive au moyen d'un mortier à la température de 37°. Nous avons pu obtenir des mélanges utilisables en incorporant à l'huile jusqu'à 25 % de lécithine. Il était ainsi possible de mesurer avec une pipette la quantité nécessaire du mélange huile-lécithine. Une température voisine de 37° correspond aux conditions habituelles de



N° 175
Sans lécithine

Fig. 5



N° 176
Lécithine 10 %

Fig. 6

l'organisme. Nous n'avons pas utilisé d'autres températures qui auraient rendu d'ailleurs presque impossible la création d'une émulsion. Une température trop basse augmentait la viscosité, ou le mélange devenait solide. Une température trop haute amenait la coagulation des albumines ou la décomposition de la lécithine.

La technique employée a été décrite au chapitre précédent.

3. Aspect des coupes.

Les coupes pouvaient avoir un aspect très différent et la coloration des gouttes de graisse était variable. En comparant deux émulsions, il était possible de voir du premier coup d'œil celle qui contenait de la lécithine et celle qui n'en contenait pas. Nous présentons ici deux photographies d'après une coloration à l'acide osmique et deux dessins faits avec un appareil de projection microscopique, d'après des colorations au Soudan III. Sans lécithine, les grandes gouttes sont plus nombreuses. Avec lécithine, les gouttes apparaissent plus petites, plus nombreuses et plus régulières. Les gouttes ne sont pas toujours rondes. Les plus grosses sont parfois ovales ou irrégulières. On peut trouver au même endroit, plusieurs gouttes situées dans des plans visuels différents. Certaines gouttes sont déformées par des bulles d'air. Enfin la gélatine et le blanc d'œuf se rétractent plus ou moins surtout après coloration à l'acide osmique, et il se forme des crevasses, particulièrement grandes dans l'une de nos photographies. (Fig. 3-8.)

4. Résultats.

Nous avons fait avec la lécithine 9 séries d'expériences que nous rapportons ci-dessous :

Les tubes contenaient 5 cm³ de gélatine à 12,5 %, 5 cm³ de blanc d'œuf et 0,2 cm³ d'huile d'olive ou de mélange huile d'olive-lécithine. Dans certaines séries des tubes plus petits contenaient la moitié des quantités indiquées.

Série 1.

Diamètre des gouttes	Nombre de gouttes ‰ sur 1000 g.	
	N° 1 Sans lécithine	N° 2 Lécithine 25 ‰
Plus de 9,5	12,5	1,0
9,5	2,2	0,7
8,5	3,0	0,7
7,5	3,5	2,0
6,5	5,7	4,1
5,5	5,8	6,8
4,5	7,5	10,9
3,5	10,3	13,0
2,5	18,8	24,8
1,5	20,7	29,9
0,5	9,9	13,1

Les tubes ont été agités pendant 5 minutes seulement.

Les gouttes sont en général plus grandes que dans les séries suivantes agitées pendant 15 à 20 minutes.

Série 2.

Diamètre des gouttes	Sans lécithine	Avec lécithine		
	N° 3	N° 4 25 %	N° 5 20 %	N° 6 10 %
Plus de 9,5	4,2	0,3	0,4	0,3
9,5	1,7	0,5	0	0,1
8,5	1,5	0,4	0,1	0,4
7,5	2,5	1,2	0,3	0,9
6,5	2,7	2,1	0,7	2,6
5,5	2,5	4,5	4,1	6,5
4,5	6,6	8,3	8,5	10,5
3,5	10,3	15,9	18,5	16,0
2,5	17,9	20,8	20,2	19,7
1,5	35,5	31,5	32,3	30,8
0,5	14,6	14,5	14,9	12,1

Ces résultats encore peu nets sont attribués à un mélange insuffisant de l'huile et de la lécithine.

Série 4.

Diamètre des gouttes	Nombre de gouttes % sur 1000 g.			
	Sans lécithine N° 11	Avec lécithine		
		N° 14 2 %	N° 13 5 %	N° 12 10 %
Plus de 9,5	4,0	0,6	0,2	0
9,5	0,8	0,6	0,1	0
8,5	2,4	0,6	0,6	0,2
7,5	2,3	1,6	0,6	0,4
6,5	2,8	2,0	0,8	0,3
5,5	5,5	4,2	1,6	1,1
4,5	7,5	5,4	4,0	3,0
3,5	10,9	10,4	7,9	9,4
2,5	16,9	22,6	17,8	15,8
1,5	30,3	36,2	40,8	42,2
0,5	16,6	15,8	25,6	27,6

Ici les différences de concentration de la lécithine se manifestent nettement.

Série 5.

Diamètre des gouttes	Nombre de gouttes % sur 1000 g.			
	Sans lécithine N° 20	Avec lécithine		
		2 % N° 21	5 % N° 22	20 % N° 23
Plus de 9,5	3,8	2,0	0,1	0,2
9,5	0,8	0,6	0,2	0,5
8,5	2,6	1,2	0,4	0,7
7,5	3,6	2,3	0,6	1,7
6,5	1,8	3,3	0,3	2,5
5,5	7,0	8,1	2,6	4,3
4,5	8,8	8,6	3,9	7,7
3,5	13,6	17,2	7,6	10,3
2,5	21,4	23,1	17,4	16,5
1,5	25,6	24,0	42,5	32,2
0,5	11,0	9,6	24,4	23,4

Série 6.

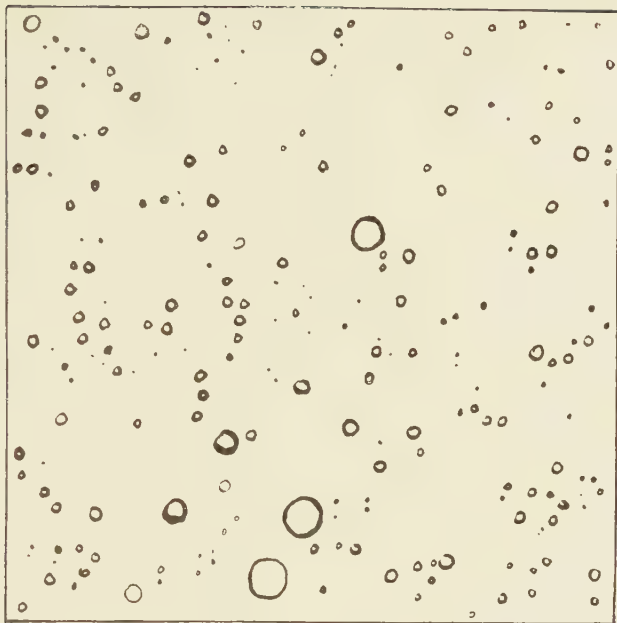
Diamètre des gouttes	Nombre de gouttes % sur 1000 g.	
	Sans lécithine N° 41	Avec lécithine 10 % N° 42
Plus de		
9,5	1,8	0
9,5	1,0	0,1
8,5	1,7	0,2
7,5	2,5	0,2
6,5	2,6	0,2
5,5	5,5	1,8
4,5	5,0	5,1
3,5	13,1	12,6
2,5	17,8	18,2
1,5	37,8	39,9
0,5	11,2	21,7

Série 7.

Nombre de gouttes % sur 1000 g.				
Diamètre des gouttes	Sans lécithine	Avec lécithine		
	N° 110	5 % N° 113	10 % N° 112	20 % N° 111
Plus de 9,5	3,5	0	0	0
9,5	0,7	0	0	0
8,5	1,5	0,2	0	0
7,5	2,5	0,2	0	0,5
6,5	3,0	1,0	0,3	0,7
5,5	5,0	3,5	1,0	1,5
4,5	8,5	5,5	3,0	3,5
3,5	13,0	12,5	7,6	11,1
2,5	15,6	27,5	23,7	20,1
1,5	34,6	40,0	42,5	38,1
0,5	12,1	11,5	21,9	22,6

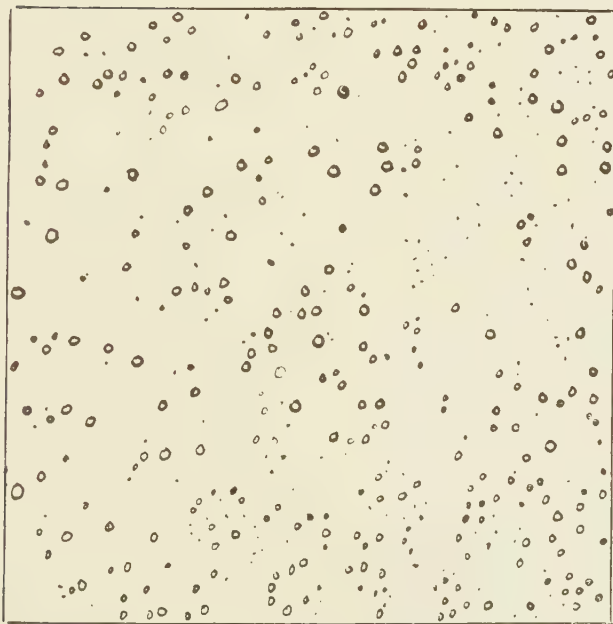
Série 8.

Diamètre des gouttes	Nombre de gouttes % sur 300 g.			
	Sans lécithine		Lécithine 10 %	
	N° 170	N° 172	N° 171	N° 173
Plus de 9,5	2	1	0	0
9,5	0,3	0	0	0
8,5	0,6	0,4	0	0
7,5	0,6	0,6	0	0,3
6,5	3	2	0	0,7
5,5	4	3	1	2
4,5	5	5	5	4
3,5	12	14	12	9
2,5	22	17	16	21
1,5	39,5	39	40	47
0,5	11	19	26	16



N° 110
Sans lécithine

Fig. 7



N° 112
Lécithine 10 %

Fig. 8

Série 9.

Diamètre des gouttes	Nombre de gouttes % sur 200 g.	
	Sans lécithine N° 175	Lécithine 10 % N° 176
Plus de 9,5	1	0
9,5	0,5	0
8,5	1,5	0
7,5	1,5	0
6,5	1	0,5
5,5	4,5	1
4,5	6,5	1,5
3,5	8,5	10
2,5	18,5	20
1,5	39,5	44
0,5	17	23

On voit ici qu'un résultat net peut être obtenu en comptant 200 gouttes de chaque tube.

Normalement, nous ne pouvons comparer que des tubes qui ont été agités ensemble, donc pendant le même temps, et avec la même intensité. Toutefois les résultats ne sont pas toujours très différents si l'on compare des tubes agités dans deux expériences distinctes. A titre d'exemple, comparons les résultats de deux expériences faites à plus de deux mois d'intervalle :

Les N^{os} 11 et 12 agités ensemble le 17 novembre 1951 et les N^{os} 110 et 112 agités ensemble le 2 mars 1952. Les N^{os} 11 et 110 ne contiennent pas de lécithine. Les N^{os} 12 et 112 contiennent 10 % de lécithine dans de l'huile d'olive :

Diamètre des gouttes	Nombre de gouttes % sur 1000 g.			
	N ^o 11	N ^o 110	N ^o 12	N ^o 112
Plus de 8,5	4,8	4,5	0	0
8,5	2,4	1,5	0,2	0
7,5	2,3	2,5	0,4	0
6,5	2,8	3	0,3	0,3
5,5	5,5	5	1,1	1
4,5	7,5	8,5	3,1	3
3,5	10,9	13	9,5	7,7
2,5	16,9	15,5	15,9	23,7
1,5	30,3	34,5	41,7	42,9
0,5	16,6	12	27,8	21,4

Bien qu'il s'agisse de deux expériences distinctes, faites à des époques différentes, on remarque une analogie très grande dans les résultats obtenus.

Pour obtenir un résultat d'ensemble de nos expériences avec la lécithine et pour pouvoir tenir compte de la concentration, nous avons groupé les résultats obtenus en mesurant 21 000 gouttes.

Diamètre des gouttes	Pas de lécithine 7000 g.	Nombre de gouttes %				
		Lécithine 2 % 2000 g.	Lécithine 5 % 3000 g.	Lécithine 10 % 4000 g.	Lécithine 20 % 3000 g.	Lécithine 25 % 2000 g.
Plus de 9,5	3	1,3	0,1	0,02	0,9	1,5
9,5	0,8	0,6	0,1	0,03	0,5	0,8
8,5	1,6	0,9	0,4	0,25	1,0	1,0
7,5	2,3	1,9	0,5	0,3	1,2	2,4
6,5	2,4	2,7	0,7	0,4	2,0	1,7
5,5	5,0	6,1	2,6	1,5	3,1	2,5
4,5	6,7	7,0	4,4	3,8	5,4	5,6
3,5	11,9	14,3	9,3	10,4	9,9	7,5
2,5	17,6	22,4	20,9	19,2	17,2	13,5
1,5	34,8	30,1	40,5	41,3	35,6	34,7
0,5	13,9	12,7	20,5	22,8	23,2	28,8

La différence la plus grande se trouve entre le cas où l'huile d'olive est employé seul et le cas où nous lui avons ajouté 10 % de lécithine. 2 % de lécithine ont une action très faible. Le nombre de petites gouttes augmente régulièrement avec la concentration. Le nombre des grandes gouttes diminue jusqu'à une concentration de 10 % pour augmenter ensuite.

Nous avons exprimé par une courbe les résultats extrêmes, en mettant en abscisse le diamètre des gouttes et en ordonnée le nombre de gouttes pour cent. (Fig. 9.)

5. Mélange lécithine-blanc d'œuf.

Nous avons mélangé la lécithine avec le blanc d'œuf et la gélatine. Nous avons ajouté l'huile d'olive ensuite et agité comme de coutume. La lécithine, si elle n'est pas mélangée à l'huile, semble n'avoir aucune action. Nous donnons ici les résultats. Les quantités de lécithine ajoutées étaient 0,05 g. — 0,2 g. — 0,5 g. pour 5 cm³ de mélange gélatine-blanc d'œuf.

Diamètre des gouttes	Nombre de gouttes %			
	Sans lécithine 3000 g.	Lécithine 0,05 2000 g.	Lécithine 0,2 2000 g.	Lécithine 0,5 1000 g.
Plus de 9,5	1,9	0,8	0,3	0,4
9,5	0,8	0,3	0,3	1
8,5	0,8	0,9	0,7	1,4
7,5	1,2	1,7	1	1
6,5	1,7	1,9	1,6	3,6
5,5	3,7	3,4	2,2	3,2
4,5	4,7	6,2	4,4	2
3,5	8,7	10,1	9,1	7,7
2,5	14,8	16,4	16,5	12,2
1,5	37,4	37,5	37,7	43,3
0,5	24,3	19,8	26,2	24,2

6. Valeur des résultats.

Si les résultats de ces essais sont exprimés par des chiffres, il serait faux de leur attribuer plus qu'une valeur relative, pour des raisons que nous avons déjà soulignées, notamment l'irrégularité des gouttes et les erreurs personnelles dues moins à la mesure de chaque goutte, qu'au choix subjectif des gouttes mesurées. Nous décidions par exemple, de compter toutes les gouttes d'un champ visuel. Mais avons-nous vraiment vu toutes les gouttes de 0,1 à 1 μ ? Chaque petit déplacement de la vis micrométrique faisait apparaître des gouttes nouvelles. Certaines étaient nettes, d'autres moins.

Cependant nous croyons pouvoir tenir compte des résultats obtenus pour les raisons suivantes :

- a) La grandeur des gouttes varie toujours dans le même sens quand on ajoute la lécithine.
- b) Les chiffres obtenus dans les mêmes conditions concordent à peu près.
- c) On voit la différence de deux émulsions par l'observation directe ou la photographie.

7. Conclusion sur les expériences avec la lécithine.

En mélangeant de la lécithine à l'huile d'olive, on obtient, à 37° environ, une émulsion plus fine qu'avec l'huile d'olive seule. La lécithine permet une dispersion plus fine de l'huile dans le mélange eau-albumine. Un mélange de 10 % de lécithine semble être une concentration optimale. Les résultats sont moins nets avec plus, ou moins de lécithine. Si la lécithine n'était pas mélangée à l'huile, nous n'avons pas obtenu d'émulsion plus fine.

V. RÉSUMÉ

Après avoir donné une vue d'ensemble du problème de la stéatose du foie, nous avons entrepris quelques expériences personnelles.

1. Nous avons réalisé des expériences de digestion et d'autolyse. Nous avons vu apparaître au cours de ces processus, des graisses colorées au Soudan III. La destruction des protéines permet donc la fusion des lipides en gouttelettes plus grandes. Mais jamais nous n'avons obtenu d'images qui soient identiques à celles que donnent les stéatoses. La graisse apparaît dans des cellules fortement endommagées et ne prend pas une coloration franche, ce qui est compréhensible, puisque les cellules meurent *in vitro*. De telles images peuvent tout au plus apparaître dans des foyers de nécrose.

2. Des émulsions d'huile d'olive dans un mélange de gélatine et de blanc d'œuf ou de sérum de cheval, fixées au formol et colorées au Soudan III nous permirent de constater : *a*) qu'une modification de la quantité de blanc d'œuf et de la teneur en eau dans des limites restreintes n'a pas d'influence appréciable ; *b*) qu'il est indifférent d'employer du sérum ou du blanc d'œuf ; *c*) que les acides augmentent le nombre des grandes gouttes si le pH est suffisamment modifié.

3. En mélangeant de la lécithine à l'huile d'olive, on obtient une émulsion plus fine qu'avec l'huile d'olive seule. La concentration optimale de la lécithine semble être de 10 %.

La lécithine doit être d'abord mélangée à l'huile. La lécithine mélangée aux protéines ne modifie pas sensiblement l'apparence de l'émulsion.

VI. CONCLUSION

Nous étions partis de quelques constatations qui nous ont conduits à étudier certains aspects de la phanérose des graisses, ou apparition subite de graisses auparavant présentes sous une forme invisible. Nous avons voulu voir dans quelles conditions une telle phanérose était possible, et si les phosphatides jouent un rôle dans cette apparition.

Nous avons constaté que des gouttes de graisse étaient libérées lorsque les protéines de la cellule sont détruites par digestion, par autolyse ou sous l'action d'acides ou autres substances.

Nous avons vu que les lécithines permettent la formation d'émulsions plus fines lorsqu'elles sont mélangées à l'huile d'olive, que celles que l'on obtient avec l'huile d'olive seule.

Ceci explique pourquoi l'analyse chimique et l'aspect histologique d'une stéatose du foie ne concordent pas toujours.

Qu'allons-nous en conclure ?

La *phanérose* des graisses existe. Mais nous ne la rencontrerons que dans des cellules fortement endommagées, par exemple, dans des foyers de nécrose. Une partie des phosphatides est incluse dans la structure cellulaire. Ce qui reste doit être transporté ailleurs. Peut-être sont-ils alors mélangés aux graisses neutres dans une proportion qui permette la formation d'émulsions invisibles pour en faciliter le transport. Mais cela, nos expériences ne peuvent le prouver. On ne forme pas dans la cellule hépatique, une émulsion en mélangeant de la lécithine à des graisses neutres et en secouant le tout. Les graisses sont formées par synthèse à l'échelle moléculaire, et peuvent exister sous la forme de gouttelettes très fines. Une grosse goutte déjà formée, ne peut pas être transportée, tant qu'elle n'a pas été transformée par les ferments de la cellule. Mais une certaine quantité de lécithine déjà présente peut empêcher la formation de grosses gouttes.



Fig. 9

Avant de terminer je tiens à exprimer mes remerciements à Monsieur le professeur Frei qui a rendu possible ce travail par ses conseils et les ressources de sa longue expérience. Je remercie également Monsieur le professeur Almasy pour quelques données techniques, la Maison Hofmann-La Roche qui a mis à notre disposition la lécithine nécessaire, Mademoiselle L. Bühlmann pour son aide précieuse pour les expériences d'autolyse, Mademoiselle R. Muggli pour les préparations histologiques, et tous ceux qui ont contribué sous une forme quelconque et parfois ingrate à cette thèse.

Curriculum vitæ.

Né le 31 mars 1925 à Valeyres sur Ursins (Vaud), je partis pour la France à l'âge de deux ans et demi. Je fréquentai l'école primaire à Magny-les-Hameaux (S. et O.), puis le Lycée de Versailles jusqu'au Baccalauréat. Je commençai mes études vétérinaires à l'Université de Zurich en 1944 et les terminai en 1949. Après l'école d'aspirants et diverses assistances en Suisse et à Versailles, je fis un remplacement à l'Institut de Pathologie vétérinaire où je commençai ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

1. *Abelous J.-E. et Soula S.-C.* Sur la formation de la cholestérine dans la pulpe splénique *in vitro*. Comptes rendus Sté Biol. 83, 663, 1920.
2. *Adam N.-K.* The physics and chemistry of surfaces. Second Edition 1938. Pages 146-152.
3. *Aschoff L.* Pathologische Anatomie 1936. Band I.
4. *Aschkenasy A.* Ann. Nutr. et Aliment. IV, N° 2, 141, 1950.
5. *Barret H.-M., Best C.-H. et Ridout J.-H.* J. Physiol. 93, 367, 1938.
6. *Bennhold, Kylin, Rusznyak.* Die Eiweisskörper des Blutplasmas. Dresden und Leipzig. Steinkopff 1938.
7. *Best C.-H., Channon H.-J. et Ridout J.-H.* Cholin and the Dietary Production of Fatty Livers. J. of Physiol. 81, 409, 1934.
8. *Best Ch. and Huntsman M.-E.* J. Physiol. London 75, 405, 1932.
9. *Best C.-H., Hershey S.-M. et Huntsman M.-E.* The effect of lecithin on fat deposition in the liver of the normal rat. J. Physiol. 75, 56, 1932.
10. *Best C.-H., Mac Lean D.-L. et Ridout J.-H.* Cholin and liver fat in phosphorus poisoning. J. Physiol. 83, 275, 1935.
11. *Best C.-H. et Huntsman M.-E.* The effect of Choline on the liver fat of rats in various states of nutrition. J. Physiol. 83, 255, 1935.
12. *Best C.-H. et Campbell J.* Anterior pituitary extracts and liver fat. J. Physiol. 86, 190, 1936.
13. *Best C.-H. et Campbell J.* J. Physiol. 92, 91, 1938.
14. *Blanquet P. et Duhamel J.* A propos de l'action de la lécithine et du cholestérol à l'interface huile-eau. Bull. Soc. Chim. Biol. 31, 716.
15. *Campbell J. et Lucas C.-C.* The lipids mobilized by anterior Pituitary Extract. The biochemical J. 48, 241, 1951.
16. *Chaddock T.-T.* Veterinary medicine 43, 197, 1948.
17. *Chaikoff L.-L. et Entenmann C.* Antifatty-liver factor of the Pancreas. Present status. Advances in Enzymology, Vol. 8, 171, 1948.
18. *Cohrs P.* Ueber die toxische Leberdystrophie bei Tieren. Tierärztl. Rundschau 35. Jahrg. 51 et 82, 1929.
19. *Cohrs P.* Ueber die intralobuläre toxische Lebernekrose bei Tieren. Tierärztliche Rundschau 35. Jahrg. 236 et 257, 1929.
20. *Cole W.-C. et Smith F.-R.* A microscopic Technique for Studying fat globules in dairy producta and other oil in water emulsions. J. of Dairy Science 22, 420, 1939.
21. *Darraspen E. et Florio R.* Sur les facteurs dits lipotropes et leur emploi en hépatologie. Revue de médecine vétérinaire 102, 129, 1951.
22. *Dickerson V.-C., Tepperman J. et Long C.-N.-H.* The role of the liver in the synthesis of fatty acids from carbohydrates. Yale J. Biol. Med. 15, 875, 1943.

23. *Dragstedt L.-R., Prohaska J. van et Harms H.-P.* Observations on a substance in pancreas (a fat metabolism hormone) which permits survival and prevents liver changes in depancreatized dogs. *Ann. J. Physiol.* 122, 43, 1938.
24. *Eger W.* Probleme der Leberpathologie. *Deutsche med. Wochenschrift*, page 317, 1948.
25. *Eger W.* Ueber Trockensubstanz und Fettgehalt menschlicher Lebern. *Virchows Arch* 312, 270, 1944.
26. *Fischer M.-H. et Hooker M.-O.* Fats and fatty degeneration. John Wiley and Sons. New York 1917.
27. *Fischler F. et Hjärre A.* Mitteilungen aus den Grenzgebieten der Medizin und Chirurgie 40, 663, 1928.
28. *Frei W., Stünzi H., Almasy F. et Holzach O.* Zur Morphologie und Chemie der pathologischen Lipideinlagerungen in der Leber. *Schw. Z. für Allg. Path. u. Bakteriol.* 14, 692, 1951.
29. *Gavin G. et Mc Henry E.-W.* The effects of Biotin upon fat synthesis and metabolism. *J. Biol. Chem.* 141, 41, 1941.
30. *Gavin G. et Mc Henry E.-W.* The effects of vitamin B₆ upon fat synthesis and metabolism. *J. Biol. Chem.* 132, 41, 1940.
31. *Gavin G. et Mc Henry E.-W.* Inositol, a lipotropic factor. *J. Biol. Chem.* 139, 485, 1941.
32. *Griffith W.-H.* Choline metabolism. IV. The relation of the age, weight and sex of young rats to the occurrence of hemorrhagic degeneration on a low choline diet. *J. Nutrition* 19, 437, 1940.
33. *Mc Henry E.-W.* Vitamin B₁ and fatty livers. *J. Physiol.* 89, 287, 1937.
34. *Harkins W.-O. et Beeman N.* Emulsions: Stability. Area per Molecule in the interfacial film. Distribution of sizes and the oriented wedge theory. *J.A.C.S* page 1674, 1929.
35. *Hauser G.* Ueber das Vorkommen von Microorganismen im lebenden Gewebe gesunder Tiere. *Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol.* 20, 162, 1886.
36. *Hörstebroek.* Experimentelle Untersuchungen über Leberverfettungen. *Verhandl. deutsch. Ges. Path.* 32, 163, 1948.
37. *Hueck W.* Morphologische Pathologie 1937. (Pages 54-79.)
38. *Hupka.* Die puerperale Leberverfettung der Kühe (Lebercoma). *Deutsche Wochenschrift* 109, 1943.
39. *Joest E.* Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. 2. Auflage Band II, page 80.
40. *Kahne E. et Lévy J. J.* de physiologie 41, 3, 183, 1949.
41. *Kraus Fr.* Ueber die in abgestorbenen Geweben spontan eintretenden Veränderungen. *Arch. f. exp. Path.* 22, 174, 1887.
42. *Lehnartz.* Chemische Physiologie 1938. 2. Auflage.
43. *Letterer E.* Beobachtungen an in die Bauchhöhle implantierten Leberstücken. *Verh. d. deutsch. Path. Ges.* 27, 254, 1934.
44. *Mac Mahon.* Ueber die phisiologische und pathologische Teilung von Kern und Zelle an Leberepithelien. *Z. für mikroskopisch anat. Forschung* 32, 413, 1933.
45. *Mäder Ellen.* Fettspeicherung der Leber bei exkretorischer Leberinsufficiens. *Frankfurter Z. für Path.* 59, 551 1947-48.
46. *Matet (M^{me} A.), Matet J. et Fridenson (M^{me} O.).* *J. de Physiol.* 39, 381, 1947 ; 41, 295, 1949. Cité par Darraspen.

47. *Montgomery M.-L., Entenman C. et Chaikoff I.-L.* The liver lipids of dogs subjected to ligation of the external pancreatic ducts. *J. Biol. Chem.* 128, 387, 1939.
48. *Montgomery M.-L., Entenman C., Chaikoff I.-L. et Nelson E.* *J. Biol. Chem.* 137, 693, 1941.
49. *Müller A.* Zur Frage des Einflusses des Lecithins auf die Löslichkeit der Oelsäure in Gallensäurelösungen. *Bioch. Z.* 249, 189, 1932.
50. *Müller E.* Die pathogenetische Bedeutung von Lipoid-Eiweisskomplexen Zentralbl. f. allg. Path. u. Path. Anat. 85, 300, 1949.
51. *Müller E.* Untersuchungen über Wesen und Entstehungsbedingungen des bindegewebigen. Hyalins. Beiträge zur Path. Anat. u. Allg. Path. 97, 62, 1936.
52. *Noll.* Arch. für Anat. u. Physiol. Physiol. Abt. 1913.
53. *Orgler A.* Chemische Nierenuntersuchungen mit Berücksichtigung des histologischen Bildes. *Virchow Archiv.* 176, 413, 1904.
54. *Perlmann J.-L.* The distribution of Phospholipoids in cream. *J. of Dairy Sc.* 18, 113, 1935.
55. *Peters J.-P. et Van Slyke D.-D.* Quantitative clinical Chemistry. The Williams and Wilkins Co. Baltimore 1946.
56. *Platt A.-P.* The dietary prevention of fatty livers. *Biochem. J.* 33, 505, 1939.
57. *Porter J.-R.* Bacterial Chemistry and Phyliology. New York. John Wiley and Sons 1945.
58. *Ralli E.-P., Rubin S.-H. et Present C.H.* The liver lipids and fecal excretion of fat and nitrogen in dogs with ligated pancreatic ducts. *Americ. J. of Physiology.* 122, 43, 1938.
59. *Redon P.* La formation du foie gras chez l'oie de Toulouse. Thèse Doct. vét. Toulouse 1949.
60. *Richardson A. et El-Rafey M.-S.* The role of surface-active constituents involved in the foaming of milk and certain milk products. Milk lipids including phospholipoids. *J. of Dairy Sc.* 31, 223, 1948.
61. *Roger H. et Binet L.* Pouvoir lipolitique du sang et des tissus. *Comptes rendus Sté Biol.* 86, 79, 1922.
62. *Romeis.* Taschenbuch der mikroskopischen Technik. 1932.
63. *Rosenfeld G.* Ergebnisse der Physiologie 1, erste Abth. 651, 1902. Cité par Fischer et Hooker.
64. *Roulet F.* Methoden der Pathologischen Histologie.
65. *Sachs H.-W.* Virchows Arch. 307, 253, 1940.
66. *Schmidt M.-B.* Der Transport von Neutralfett durch das Blutplasma. *Virchows Arch.* 313, 1, 1944.
67. *Schulte K.-E.* Die Zusammensetzung des Leberfettes durch P-vergifteter und gesunder Kaninchen. *Bioch. Z.* 313, 78, 1942-43.
68. *Selye H.* The Physiology and Pathology of Exposure to Stress. Acta Inc. Montréal 1950 et annual Report 1951.
69. *Sinclair R.-G.* Metabolische und nicht metabolische Phospholipide. *J. Biol. Chem.* 94, 114, 1936.
70. *Sperry W.-M., Brand F.-C., Copenhauer W.-M.* The behavior of lipids during autolysis of liver and brain. *J. of Biol. Chem.* 144, 297, 1942.
71. *Stetten De W.-Jr. et Grail G.-F.* Effect of dietary choline, ethanolamine, serine cystine, homocysteine and a guanidoacetic acide on the liver lipid. *J. Biol. Chem.* 144, 175, 1942.

72. *Stetten De W.-Jr. et Boxer C.-C.* Studies in carbohydrate metabolism. *J. Biol. Chem.* 155, 231, 237, 1944.
73. *Szörényi E.* Die Löslichkeit der Fettsäuren in Galle unter Einwirkung des Lecithins. *Biochem. Z.* 249, 182, 1932.
74. *Terbrüggen.* Das Problem der sog. degenerative Prozesse in der path. Histologie. *Zentralbl. f. Allg. Path. u. path. Anat.* 86, 165, 1950.
75. *Tidwell H.* Mechanism of fat absorption as evidenced by chylomicrographics studies. *J. of Biol. Chem.* 182, 405, 1950.
76. *Tucker H.-F. et Eckstein H.-C.* *J. Biol. Chem.* 121, 479, 1937.
77. *Tuerkischer E. et Wertheimer E.* Glycogen and adipose tissue. *J. Phys.* 100, 385, 1942.
78. *Turchini J.* *Cellule-Embryologie.* Doin, Paris 1943.
79. *Virchows Archiv* 1, 94, 1847, cité par Fischer et Hooker.
80. *Waldvogel.* Autolyse und fettige Degeneration. *Virchows Arch.* 177, 1, 1904.
81. *Witschard A.* The influence of bacterial toxic substances on the oxidation of the liver. *Diss. Zürich* 1951.

